UNIVERSITE DE LAUSANNE – FACULTE DES SCIENCES

Travail effectué dans la Division Autonome de Neuropathologie
(Faculté de Médecine)

MATURATION POSTNATALE QUANTITATIVE DE L'ECORCE CEREBRALE DE LA SOURIS

Développement normal et carences nutritionnelles

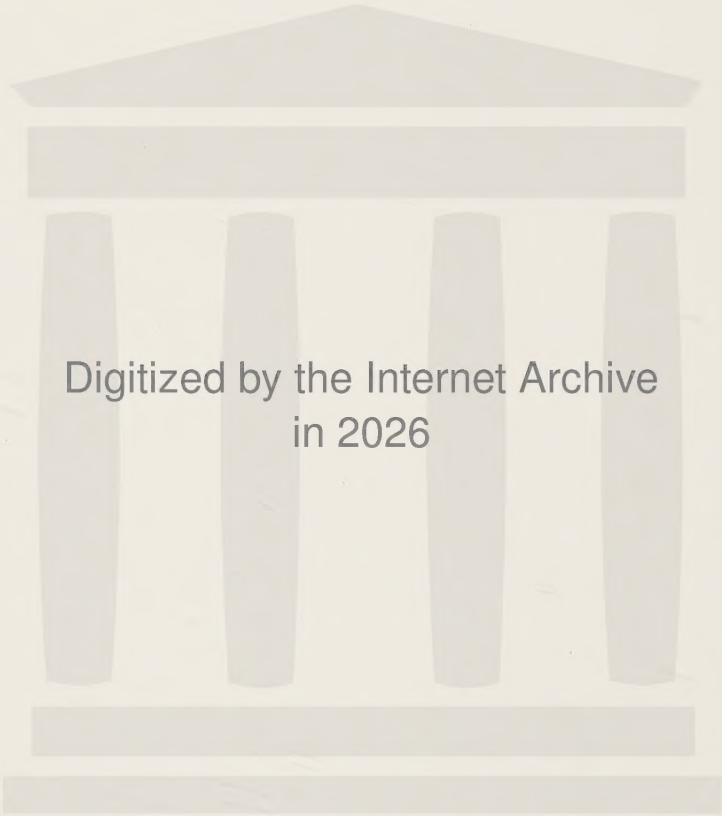
THESE

présentée à la Faculté des Sciences de l'Université de Lausanne
en vue de l'obtention du grade de docteur ès sciences

par

GENEVIEVE GFELLER-LEUBA

1977


Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546816_0028

UNIVERSITE DE LAUSANNE – FACULTE DES SCIENCES

Travail effectué dans la Division Autonome de Neuropathologie
(Faculté de Médecine)

MATURATION POSTNATALE QUANTITATIVE DE L'ECORCE CEREBRALE DE LA SOURIS

Développement normal et carences nutritionnelles

THESE

présentée à la Faculté des Sciences de l'Université de Lausanne
en vue de l'obtention du grade de docteur ès sciences

par

GENEVIEVE GFELLER-LEUBA

Ce travail de doctorat a été réalisé avec l'appui du Fonds national suisse de la recherche scientifique (crédits no 3.641.-071 et 3.434.-074).

*****

INTRODUCTION GENERALE

La nécessité de disposer de données quantitatives non seulement pour comprendre le développement de l'écorce cérébrale dans des conditions normales et pathologiques, mais encore pour délimiter les différentes régions corticales, a été reconnue chez l'humain depuis fort longtemps.

En 1895 déjà, HAMMARBERG, dans sa thèse sur l'oligophrénie, soulignait en effet l'importance que pouvait avoir un déficit neuronal dans le fonctionnement cérébral, avant de mettre au point une des premières méthodes cytoarchitectoniques quantitatives pour l'évaluation de la population neuronale. Quelques décennies plus tard, VON ECONOMO et KOSKINAS (1925), puis CONEL (1939-1967) et RABINOWICZ (1962;1964) reprenaient la méthode d'HAMMARBERG (1895), les premiers pour établir et délimiter les aires corticales de l'homme adulte, les seconds pour étudier quantitativement le développement de ces aires chez l'enfant après la naissance, CONEL (1939-1967) ou avant la naissance, RABINOWICZ (1962;1964).

La cytoarchitectonie quantitative, dans une perspective historique peut ainsi être définie comme l'étude de la stratification de l'écorce cérébrale, la quantification ayant pour but de permettre l'individualisation des aires à l'état adulte puis au cours du développement. Ce domaine s'est élargi actuellement à l'étude des quantités de cellules constituant le cortex cérébral, neurones avec leurs prolongements, cellules gliales et endothéliales, en respectant leur localisation dans l'écorce, leur place dans les couches et leur connectivité propre. L'étude quantitative des connexions entre éléments nerveux (synapses) a pris en particulier de plus en plus d'importance.

CHAPITRE I

MATERIEL ET METHODES

1. INTRODUCTION.

L'expérimentation dans ce travail porte sur deux formes de déprivation nutritionnelle et sur leurs conséquences pour la maturation de l'écorce cérébrale (3). Les animaux témoins de nos expériences (2.1.) présentent aussi un intérêt pour le développement cortical normal. Nous avons de ce fait trois sujets d'étude complémentaires, lesquels ont été abordés avec les mêmes méthodes histologiques et quantitatives.

La technique de Crésyl violet (4.) met en évidence la stratification du cortex cérébral et se révèle particulièrement appropriée, aussi bien pour les mesures de cytoarchitectonie quantitative (6.) et d'épaisseur corticale (7.), que pour l'estimation du volume cortical et du nombre total de cellules (8.).

La technique de Golgi (5.) imprègne les cellules nerveuses avec leurs prolongements et leurs réseaux de connexions; elle se montre très utile pour l'analyse quantitative du neuropile dans quelques-uns de ses aspects (9.).

Ces deux procédés histologiques, Crésyl violet et Golgi, se complètent dans la mesure où ils nous permettent, à la fois d'apprécier à différents niveaux quantitatifs la maturation corticale normale et carencée, et de mieux comprendre les relations existant entre plusieurs paramètres caractéristiques du développement de l'écorce cérébrale.

2. ANIMAUX D'EXPERIENCE.

2.1. Provenance et conditions standard.

Les animaux sont des souris SWISS ALBINOS de souche OF_1, obtenues d'IFA CREDO, LYON, FRANCE.

Certains des animaux normaux proviennent directement d'IFA CREDO, 2-3 jours avant la date choisie pour le sacrifice et feront partie des témoins dans les expériences de dénutrition. Cependant la plus grande partie des animaux témoins et tous les animaux carencés (3.2., 3.4.) sont élevés dans notre laboratoire, dans des conditions standard d'humidité (45-50%), de température (23-24°C) et d'éclairement (12 h/24 h.). Seuls les mâles sont utilisés dans nos expériences.

2.2. Alimentation.

Le régime alimentaire standard* est le régime no A 03 (fig. 1), obtenu de l'USINE D'ALIMENTATION RATIONNELLE, VILLEMOISSON s/ORGE, FRANCE. Le régime employé par IFA CREDO a des teneurs en protéines, lipides, glucides, éléments minéraux et vitamines tout à fait analogues.

2.3. Estimation de la croissance.

Les animaux témoins et carencés sont pesés tous les jours à partir du 2ème jour après la naissance et jusqu'à 21 jours, date du sevrage, puis tous les 5 jours jusqu'à 90 jours, enfin tous les mois jusqu'à 180 jours.

Le moment d'apparition de la fourrure, de l'ouverture des oreilles et des yeux est noté.

Le développement du comportement et des réflexes n'est pas étudié.

* Les méthodes de déprivation nutritionnelle sont décrites sous (3.).

FORMULE

Céréales et Produits Hydrocarbonés	68 %
Tourteaux	6 %
Farine d'origine Animale	15,5 %
Activateurs de croissance	5,5 %
Composé Minéral Vitaminisé (A. D. groupe B).	4 %

ANALYSE MOYENNE

Energie (en cal kg)	3.480
Matières seches	88
Protéines digestibles	20,8
Humidité	12
Matières Minérales	5,7
Matières Cellulosiques	3,4
Matières azotées totales	23,6
Matières Grasses	5
Extr. non azoté (sucre, amid.)	50,4
	100

TENEURS EN ACIDES AMINES (calculées)

Arginine	14.900 mg kg
Cystine	3.000 "
Lysine	14.600 "
Méthionine	4.800 "
Tryptophane	2.600 "
Glycine	12.700 "

TENEURS en MINERAUX TOTAUX

	App Nat. (moy.)	App par C M	TOTAUX
			mg kg
Phosphore	7.800	0	7.800
Calcium	8.400	0	8.400
Potassium	7.500	0	7.500
Sodium	1.870	1.500	3.370
Magnésium	1.590	130	1.720
Manganèse	27	40	67
Fer	130	150	280
Cuivre	13,5	15	28,5
Zinc	19	45	64
Cobalt	0,06	1,5	1,56
Iode	apporté sous forme assimilable par algues marines		

VITAMINES (calculées aux cent kg)

	App Nat. (moy.)	App Synthet.	TOTAUX
Vitamine A	180 000 UI	1 500 000 UI	1 680 000 UI
D	3 400 "	400 000 "	403.400 "
B1	600 mg	200 mg	800 mg
B2	400 "	900 "	1.300 "
B5	1.400 "	1.300 "	2.700 "
B6	200 "	150 "	350
B12	2,1 "	2 "	4,1 "
E	1.700 "	3.000 "	4.700
K	120 "	450	570
PP	5.800 "	3 000 "	8.800 "
Acide Folique	90	0 "	90 "
Biotine	7 "	0 "	7 "
Choline	130 000 "	80.000 "	210 000 "

Durée de conservation des Vitamines Synthétiques : 4 mois.

Figure 1 : Composition du régime alimentaire standard.

USINE D'ALIMENTATION RATIONNELLE - VILLEMOISSON s/ORGE FRANCE.

2.4. Sacrifice des animaux et prélèvement des cerveaux.

Les animaux témoins et carencés sont endormis à l'éther et décapités; la boîte crânienne est rapidement ouverte par une incision partant du trou occipital et suivant la scissure interhémisphérique jusqu'en avant du pôle frontal, ainsi que par deux petites incisions latérales; le cerveau est prélevé après glissement d'une spatule sous le cervelet et décollement progressif de la base du crâne; il est placé aussitôt dans la solution de fixateur. Moins de 3 minutes s'écoulent entre la mort de l'animal et l'immersion dans le fixateur, lequel dépend de la technique histologique utilisée ensuite (Crésyl violet (4.)/Golgi (5.).

Les hémisphères cérébraux des cerveaux colorés au Crésyl violet (4.) sont pesés après fixation et section du cervelet et des lobes olfactifs. Balance Mettler, précision 10^{-3}g.

. METHODES DE DEPRIVATION NUTRITIONNELLE.

.1. Introduction.

De nombreuses méthodes ont été utilisées pour provoquer une carence nutritionnelle chez l'animal, particulièrement chez le rat ou la souris, dont la maturation cérébrale essentiellement postnatale, se rapproche de celle de l'humain, HIMWICH (1962), DOBBING (1974).

Ces méthodes diffèrent principalement par le type de déprivation, déficience calorique (sous-nutrition) ou protéique (malnutrition), par la sévérité de l'atteinte (degré du déficit) et par le moment d'intervention (avant ou après la naissance). Diverses combinaisons de ces facteurs ont également été appliquées et rendent la comparaison des résultats malaisée.

Cependant les trois premières semaines suivant la naissance (phase d'allaitement) sont chez la souris particulièrement importantes pour le développement cérébral, et de ce fait très sensibles aux atteintes nutritionnelles, DAVISON et DOBBING (1968), JACOBSON (1970). C'est cette période que recouvre notre première expérience avec un déficit calorique très sévère (sous-nutrition postnatale, 3.2.). Parmi les différentes façons d'obtenir ce déficit, ligature des mamelles maternelles, agrandissement artificiel des portées, SUGITA (1918b), WINICK et NOBLE (1966), BARNES et al. (1966), CASTELLANO et OLIVERIO (1976), CORDERO et al. (1976), etc., ou retrait des petits quelques heures par jour, SUGITA (1918b), EAYRS et HORN (1955), RAJALAKSHMI et al. (1967), SALAS et al. (1974), etc., nous avons opté pour la troisième solution; la première est en effet techniquement difficile à réaliser et très rarement utilisée et nous avons essayé la deuxième sans résultats probants.

La possibilité de comparer les effets d'une très grave carence durant la période vulnérable avec ceux d'une déprivation moins grave mais plus spécifique et commençant déjà in utero, nous a incitée à entreprendre une seconde expérience (malnutrition protéique maternelle, 3.4.). Le principal inconvénient du procédé de malnutrition maternelle est évidemment la difficulté de savoir, si le foetus, puis le petit après la naissance, partage la spécificité du déficit imposé ou s'il subit plutôt une carence d'ordre quantitatif (3.5., 3.6.). Quoiqu'il en soit, cette méthode a été beaucoup utilisée, ZAMENHOF et al. (1973), RANDT et DERBY (1973), STEWART et al. (1974), WEST et KEMPER (1976), etc. Les conséquences sur la croissance existent et sont moins importantes que lors d'une déficience aiguë après la naissance (chap. III et IV).

Nous disposons ainsi de deux formes différentes d'atteinte nutritionnelle, observées aussi chez l'humain (3.7.), susceptibles de nous permettre une meilleure compréhension de leurs effets à long terme sur la maturation corticale.

3.2. Sous-nutrition postnatale.

Les souris gestantes SWISS ALBINOS proviennent d'IFA CREDO, LYON (France). Toutes les portées sont normalisées à huit petits par mère. Les naissances ayant lieu la nuit dans la grande majorité des cas, le matin du jour suivant est compté comme premier jour. Il y a donc au plus 12 heures de différence d'âge entre les animaux d'une même série expérimentale.

Quelques portées demeurent intactes jusqu'à 21 jours, date du sevrage; les petits qui en sont issus constituent une partie des animaux témoins, l'autre provenant directement d'IFA CREDO 2-3 jours avant les âges prévus pour le sacrifice (2.1.).

Dans les autres portées, quatre des petits sont séparés de la mère 12h/24h. durant la nuit, à partir du 2ème soir; nous avons remarqué qu'une manipulation intervenant trop tôt après la naissance des petits induisait souvent la mère à les dévorer.

Nous plaçons les animaux sous-alimentés durant la nuit dans des cages très propres, à une température de 26-28°C. Les quatre autres petits restent avec la mère, pour éviter de perturber la lactation; ils ne seront pas utilisés comme témoins en raison de leur relative "sur-alimentation" pendant la nuit. Durant la journée, les petits sous-alimentés, moins développés et affaiblis, sont de surcroît victimes d'un certain degré de compétition avec ceux qui restent constamment près de la mère. Les animaux témoins et sous-alimentés sont pesés chaque soir durant les 21 premiers jours, puis à des intervalles plus espacés (2.3.).

La mortalité chez les animaux sous-alimentés est très élevée durant les 21 premiers jours : environ 50%. A partir de 21 jours, les survivants sont laissés sans interruption avec la mère, entre 1 et 6 jours suivant leur état. Le sevrage est opéré progressivement par addition de nourriture solide du régime standard AO_3 identique à celui des témoins (2.2.); ce dernier est fourni ensuite ad libitum durant le reste de l'expérience.

Les animaux mâles sont sacrifiés au hasard au cours de la phase de sous-alimentation, à 10, 15 et 21 jours et après différentes périodes de réhabilitation nutritionnelle, à 30, 60 et 180 jours. L'expérience est répétée 4-5 fois avec des séries différentes. Les études quantitatives de l'écorce (6., 7., 8.) et du neuropile (9.) sont effectuées dans les cerveaux d'animaux provenant pour chacune, de deux séries expérimentales au minimum.

3.3. Critique de la méthode de sous-nutrition.

Les résultats obtenus par cette méthode de sous-alimentation sur la croissance des animaux sont spectaculaires (chap. III, 2.1.). On doit cependant relever les éléments suivants :

a) Le retrait des petits à leur mère 12 heures par jour durant la période critique de leur développement n'induit pas seulement une carence nutritionnelle, mais les prive également de contact maternel et social. SLOB et al. (1973) ont décrit une absence de déficit comportemental chez des animaux sous-alimentés après la naissance par séparation de leur mère, mais placés durant cette période avec des femelles vierges "sensibilisées" au comportement maternel.

LYNCH (1976) décrit une méthode du même type où les mères de remplacement ont les mamelles ligaturées; il rapporte que celles-ci, comme du reste les vraies mères, s'occupent beaucoup plus de leurs petits sous-alimentés que dans les portées normales. Nous n'avons pour notre part pas constaté ce phénomène, mais aucune étude quantitative n'a été faite sur le plan comportemental.

b) La méthode d'éloignement de la mère induit également un stress quotidien de manipulation bien que toutes les précautions soient prises pour le réduire; ce fait, à lui seul, peut avoir des effets sur le comportement ultérieur, LEVINE et OTIS (1958).

c) La prise de nourriture n'est pas contrôlée ni contrôlable autrement que par le poids et la croissance des animaux. Il existe une très grande variabilité d'un animal à l'autre dans l'apparition de la fourrure et l'ouverture des yeux, de manière analogue à ce qui a été constaté dans les portées agrandies artificiellement, GALLER et TURKEWITZ (1975). De plus, à partir d'un certain seuil de sous-alimentation (touchant surtout la restriction protéique), l'animal manifeste de l'anorexie et réduit encore sa prise de nourriture, Mc CANCE et WIDDOWSON (1966a).

La seule manière de contrôler exactement la quantité de nourriture reçue par les animaux au cours de l'expérience aurait été de les alimenter artificiellement par intubation gastrique, MILLER et DYMSZA (1963), MESSER et al. (1969); mais, outre les difficultés techniques, le stress dû à la méthode elle-même aurait été encore beaucoup plus grand. Les bébés rats développent en effet un syndrome de blocage stomacal et intestinal et il faut les faire téter une mère sans lait pour éviter la mort, MILLER et DYMSZA (1963).

3.4. Malnutrition protéique maternelle.

Des femelles vierges SWISS ALBINOS OF_1, de 30 jours et de poids normal, sont soumises à un régime hypoprotéique (8%) pour un mois; elles sont ensuite accouplées avec des mâles normaux et le même régime leur est donné ad libitum pendant toute la durée de gestation et de lactation. A la naissance, les portées sont normalisées à huit petits par mère, lesquels ne sont manipulés que pour être pesés chaque jour. La mortalité est quasi nulle et les différences de poids entre petits sont moins considérables que chez les animaux sous-alimentés par séparation maternelle. Le sevrage a lieu entre 21 et 23 jours et les animaux ont alors accès ad libitum à la diète standard (2.2.) contenant 20,8% de protéines pour le reste de l'expérience. Cette dernière est répétée 3-4 fois, de manière à obtenir des séries différentes; les animaux sont sacrifiés

aux mêmes âges que dans la sous-nutrition postnatale (3.2.).

Le régime maternel hypoprotéique a été rendu isocalorique par l'addition d'un pourcentage assez élevé de glucides. Il est obtenu de l'USINE D'ALIMENTATION RATIONNELLE, VILLEMOISSON s/ORGE, FRANCE, et contient les éléments suivants :

Protéines	:	8%
Matières grasses	:	5%
Sucre, amidon	:	72%
Cellulose	:	5%
Minéraux	:	6%
Vitamines	:	2%
Act. croissance	:	2%

3.5. Critique de la méthode de malnutrition.

Les résultats obtenus par cette méthode sur la croissance des petits sont significatifs (chap. IV, 2.1.) mais sujets à certaines critiques :

a) A l'inverse de la sous-nutrition postnatale, le stress de la séparation avec la mère n'existe pas et les petits n'ont pas à affronter une compétition avec des congénères mieux nourris qu'eux-mêmes. Cependant FRANKOVA (1971) a décrit un comportement maternel altéré chez les mères recevant un régime hypoprotéique ainsi que chez leurs petits; elle a également montré (1974) que si l'on plaçait dans la cage une femelle vierge (tante), en plus de la mère, le comportement des petits s'améliorait. Il y aurait donc, comme dans la méthode de sous-nutrition postnatale, un facteur de stress supplémentaire et non nutritionnel.

b) La malnutrition n'est qu'indirecte puisque c'est la mère qui reçoit le régime hypoprotéique. Or MILLER (1970) a montré que des femelles gestantes, nourries avec un régime "basse protéine", n'avaient pas une composition du lait significativement altérée, mais par contre une lactation diminuée. De plus, NAISMITH (1973) estime que la restriction protéique durant la gestation n'a que peu d'effets sur la croissance du

foetus : des adaptations dans le métabolisme protéique ont lieu au cours de la gestation et jouent un rôle protecteur; les protéines sont stockées dans les tissus maternels pour transfert au foetus en fin de gestation et le catabolisme protéique est freiné sous l'action de la progestérone.

Dans notre expérience, les mères ont déjà un régime hypoprotéique un mois avant le début de la gestation et cela dès l'âge de 30 jours, moment où la croissance corporelle de la souris n'est pas tout à fait terminée. Nous serions donc fondée à penser que les femelles gestantes n'ont pas autant de réserves que celles dont le régime hypoprotéique commence en cours de gestation seulement, et qu'un certain degré de carence nutritionnelle in utero a pu se produire. Du reste, les petits ont à la naissance un poids significativement inférieur à celui des témoins (chap. IV, 2.1.). Nous ne pouvons cependant pas assurer que le déficit soit uniquement protéique. Si dans la période postnatale, la lactation n'est pas altérée qualitativement mais quantitativement, MILLER (1970), il ne s'agitpas d'une malnutrition au sens strict du terme, mais plutôt d'une forme de sous-nutrition chronique par comparaison avec la sous-nutrition postnatale aiguë (3.2.). Une malnutrition uniquement protéique aurait pu être obtenue par une méthode d'alimentation totalement artificielle, mais nous avons vu que cela présentait de graves inconvénients (3.3.).

3.6. Comparaison des deux méthodes et rapport protéines-calories.

Si la qualité du lait chez les mères hypoprotéiques n'est pas altérée, les animaux reçoivent dans les deux types d'expérience une quantité de nourriture réduite après la naissance, de manière très importante dans la sous-nutrition postnatale et moins importante dans la malnutrition protéique maternelle (à quoi viennent s'ajouter des stress dus au comportement de la mère et à la manipulation des petits). On pourrait donc penser que, du point de vue nutritionnel, c'est le déficit calorique qui intervient en premier lieu.

Cependant certaines expériences ont établi que c'est le déficit protéique qui joue un rôle primordial. HSUEH et al. (1967) et MILLER (1970) ont démontré, après sous-nutrition ou malnutrition de la mère, que la croissance réduite des petits ne revenait pas à la normale par addition à leur régime de glucides ou de lipides; par contre un apport supplémentaire de protéines avait un effet positif. Il est connu d'autre part que la croissance des animaux est la meilleure pour les espèces dont le lait a la plus haute teneur en protéines, cette relation n'existant pas pour les autres nutriments, Mc CANCE et WIDDOWSON (1966b). On sait aussi (expérience de dilution protéique du lait) que la croissance des petits rats est directement proportionnelle à la valeur protéique de leur alimentation, CZAJKA-NARINS et al. (1973).

Le déficit protéique joue donc un rôle important dans nos deux méthodes, mais à cela s'ajoute un déficit calorique, puisque la quantité totale de lait est plus ou moins restreinte. Or les deux éléments sont liés par des rapports complexes, MORRISON et NARAYANA RAO (1967). En particulier la synthèse protéique ne peut se produire qu'en présence d'un apport calorique adéquat. La restriction énergétique entraîne une augmentation de catabolisme protéique (utilisation des réserves) et une moindre fixation de l'azote protéique dans les tissus. Dans le cas d'animaux en croissance, on ne peut pas parler de réserves et la synthèse protéique, aussi bien dans le foie que dans le cerveau, est très basse à la naissance, MILLER (1969). VAVROUSEK-JAKUBA et MILLER (1975) ont montré aussi qu'une sous-nutrition de 15 heures suffisait à provoquer une grande réduction de la synthèse protéique dans le foie de rats âgés de 6 jours, sans toucher celle d'animaux âgés de 19 jours. Il n'y a donc pas non plus de capacité adaptative de l'organisme à un stress nutritionnel dans la période néonatale.

Les animaux de nos deux expériences subissent une carence nutritionnelle juste après la naissance, période sans grande capacité de synthèse protéique, principal facteur de la croissance;

cette dernière va donc être touchée dans son développement et dans ses réponses adaptatives, à la fois par la réduction de l'apport protéique alimentaire et par la réduction de l'apport calorique.

Dans la période prénatale, seuls les animaux de notre seconde expérience (malnutrition protéique maternelle, 3.4.) subissent un déficit nutritionnel, mais nous avons vu qu'il est très difficile de savoir si celui-ci est uniquement protéique (3.5.). La complexité des rapports protéines-calories est en effet encore augmentée par la présence de mécanismes d'adaptation dans le métabolisme maternel au cours de la gestation, NAISMITH (1973).

3.7. Valeur des modèles pour l'humain.

3.7.1. Type de déprivation.

Chez l'enfant humain on distingue deux formes extrêmes d'atteinte nutritionnelle : le marasme, sous-nutrition grave et précoce, intervenant déjà dans la première année, et le kwashiorkor, malnutrition protéique, intervenant généralement après le sevrage, mais souvent rapidement compliquée de sous-nutrition, MAURON (1975). En fait, la déficience protéique seule est rare et l'on parle plus volontiers de "Protein-Calorie Malnutrition", LATHAM (1974). Même si tous les paramètres ne sont pas contrôlables, nos deux modèles de carence nutritionnelle sont ainsi plus proches de ce qui existe chez l'humain, qu'une déprivation quantitative ou qualitative précise, au moyen d'une méthode d'alimentation artificielle (3.3., 3.5.). De plus, en raison des quantités variables de lait que peuvent recevoir les différents petits (3.2., 3.3., 3.5.), nous obtenons un échantillonnage d'animaux atteints à des degrés divers, phénomène également assez proche de la réalité humaine.

3.7.2. Période critique.

En plus de la durée et de la sévérité de la période de déprivation nutritionnelle, il faut également envisager le moment

auquel elle intervient. Les conséquences au niveau cellulaire d'une sous-nutrition, même grave, sur le cerveau d'animaux adultes, sont en effet pratiquement inexistantes, WINICK et NOBLE (1966). C'est au moment du "Brain Growth Spurt" que le cerveau des mammifères est le plus vulnérable aux atteintes nutritionnelles, DOBBING (1974). Chez le rat et la souris, cette période de forte croissance cérébrale (0-21 j.) précède celle de forte croissance corporelle (21-35 j.), HIMWICH (1962), DOBBING (1974).

Il est bien entendu que, dans nos résultats, toute extrapolation à l'humain ne peut se faire qu'avec précaution. Cependant, si l'on veut utiliser un modèle susceptible de nous apporter quelque information sur les effets d'une carence nutritionnelle chez l'animal et chez l'homme, il faut veiller au moins à comparer des périodes comparables du point de vue du développement cérébral, DOBBING (1970). Chez l'homme, la période la plus vulnérable pour la maturation cérébrale se situe entre le 5-6ème mois prénatal et la 2-3ème année postnatale, la première partie de la gestation étant relativement protégée, DOBBING et SANDS (1971). Chez le rat et la souris, la période analogue se situe entre la naissance et 21 jours postnatal, HIMWICH (1962), DOBBING (1974)*.

Il faut donc se souvenir que la souris naît avec un cerveau plus immature que l'enfant humain et que la phase vulnérable de son développement cérébral est entièrement postnatale, alors qu'elle ne l'est que partiellement chez l'humain. La période de carence nutritionnelle aiguë entre la naissance et 21 jours chez la souris correspondrait en fait au dernier trimestre de gestation et aux premières années de vie chez l'enfant, avec la restriction suivante : si le souriceau à la naissance et le foetus humain du 6ème mois sont à peu près au même stade de leur maturation cérébrale, le foetus humain bénéficie d'une protection relativement plus grande durant la fin de la gestation que le souriceau durant les 4-5 premiers jours de vie. Pour obtenir un modèle de déprivation nutritionnelle humaine uniquement après la naissance, il faudrait alors

* Nos résultats le démontreront également au niveau morphologique (chap. II).

carencer des souriceaux à partir du 5ème jour postnatal seulement.

On peut toutefois relever avec plusieurs auteurs, TIZARD (1974), LATHAM (1974), DODGE, PRENSKY et FEIGIN (1975), que la plupart des enfants souffrant de carence nutritionnelle dans leur jeune âge, ont souvent déjà été mis au monde par des mères sous-alimentées ou mal-alimentées de manière chronique. A cet égard, notre second modèle, malnutrition chez la mère avant et pendant la gestation, puis durant toute la lactation, est particulièrement adéquat, puisqu'il reproduit une forme de déficience alimentaire chronique.

Les conséquences à long terme pour le cortex cérébral sont-elles plus importantes lors d'une sous-nutrition aiguë durant la période vulnérable, ou bien lors d'une carence nutritionnelle moins grave mais commençant dès le début de la gestation ? C'est l'une des questions auxquelles nous tenterons de répondre au moyen des deux modèles utilisés (chap. III, IV, V).

4. TECHNIQUE HISTOLOGIQUE DE CRESYL VIOLET.

4.1. Généralités.

Cette technique met en évidence la stratification de l'écorce cérébrale et permet de révéler toutes les cellules, neurones, cellules gliales et endothéliales, grâce à l'affinité du colorant pour les protéines et les acides nucléiques cellulaires, tandis que la matière intercellulaire reste claire. Elle est donc particulièrement appropriée pour l'utilisation des méthodes cytoarchitectoniques quantitatives (5.).

4.2. Fixation.

Prélevés à 5, 10, 30, 60 et 180 jours, les cerveaux sont placés pour 4 heures dans une solution de Heidenhain Suza, puis pour 15 jours dans de l'éthanol 96° renouvelé plusieurs

fois (fixation par immersion).

La solution de Heidenhain Suza contient les éléments suivants:

- 4,5 g. bichlorure de mercure ($HgCl_2$)
- 0,5 g. chlorure de sodium (NaCl)
- 80 ml. eau distillée (60-70°C)
- 2 g. acide trichloroacétique ($CHCl_3$ COOH)
- 4 ml. acide acétique concentré (CH_3 COOH)
- 20 ml. formol concentré (CHO).

4.3. Remarques sur la fixation.

a) Le fixateur de Heidenhain Suza a un pouvoir pénétrant plus rapide et plus fort que les autres fixateurs, le formol seul par exemple. CAMMERMEYER (1960) en recommande l'utilisation pour éviter les artefacts de fixation du type "dark neuron".

b) Une fixation par perfusion aurait peut-être été meilleure, mais une grande partie des cerveaux avaient déjà été prélevés et fixés lorsque nous avons pu disposer d'un appareil à perfuser. Comme le degré de "shrinkage" (rétrécissement) varie suivant la méthode de fixation, nous avons conservé la fixation par immersion. Le degré de "shrinkage" de nos cerveaux n'a pas été mesuré; cependant, nos échantillons ont tous été traités de la même manière et la comparaison entre eux est valable.

Le degré de "shrinkage" dépend du pourcentage d'eau contenu dans la structure fixée; il peut donc varier un peu au cours du développement; toutefois les changements du contenu en eau ne sont pas très grands dans le cerveau du rat et de la souris, FOLCH-PI (1955), HIMWICH (1962).

c) L'éthanol améliore la coloration au Crésyl violet décrite sous 4.5.

4.4. Enrobage - coupe - montage.

L'enrobage est fait sous vide au moyen d'un appareil à enrober, Autotechnicon ultra, selon un programme de 16 heures (4x1 h.

alcool isopropylique 100°, 1 h. mélange alc. isopropylique/ salycylate, 1 h. + 1 h.30 + 2 h. salycylate, 1 h.30 + 2 h. + 3 h. mélange paraffine Merck 3/4 51-53° + 1/4 46-48°).

Le mélange de paraffine est celui qui a donné les meilleurs résultats pour des coupes épaisses (25 microns).

Les hémisphères sont enrobés dans le mélange paraffine Merck, lobes frontaux vers le haut, puis coupés en série, frontalement, à 25 microns, sur un microtome Minot rotatif Leitz. Les plus grandes précautions sont prises pour assurer l'égalité de l'épaisseur des coupes : stabilité de température du local, continuité et régularité de la coupe, etc.

Les coupes sont ensuite montées sur des lames de verre et laissées à l'étuve 37°C durant 48 heures.

Pour les méthodes utilisées, et particulièrement pour les mesures de volume (8.1.), nous avons besoin de coupes en séries; chaque fois qu'une coupe tombe pour une raison technique, sa place dans la série est conservée et notée.

4.5. Coloration au Crésyl violet.

Après déparaffinage et passage de 24 - 36 h. dans l'éthanol 96° (étuve 37°C), les coupes sont colorées au Crésyl violet Siegfried à 1 o/oo (1 h. à l'étuve 60°C). La différenciation est faite avec les solutions suivantes :

a) éthanol 96°

b) alcool isopropylique 100°

c) Différenciateur Gothard (à l'emploi 1/3 + 2/3 xylol)
   120 cc essence de cajeput
   160 cc créosate
   240 cc xylol
   480 cc éthanol absolu

d) Différenciateur doux (utilisation tel quel)
   10 cc essence de cajeput
   10 cc essence d'origan
   100 cc xylol
   100 cc éthanol absolu.

Les coupes sont contrôlées sous le microscope au moment critique de la différenciation, de manière à ce que les nucléoles soient visibles dans les noyaux de neurones et de cellules gliales, que le cytoplasme soit bien coloré et que le fond soit clair.

5. TECHNIQUE HISTOLOGIQUE DE GOLGI.

5.1. Généralités.

Cette méthode d'imprégnation des cellules nerveuses fut découverte par C. GOLGI en 1873, mais de nombreux auteurs y ont apporté des modifications depuis lors. Sa principale restriction réside dans le fait que seul un faible pourcentage de neurones est imprégné, VALVERDE (1970); ce fait constitue en même temps un avantage, car les neurones imprégnés le sont totalement, réseau dendritique et axone compris; nous pouvons ainsi observer et quantifier ces divers éléments.

Les différentes techniques de Golgi peuvent se diviser en deux groupes :

a) celles conduisant à un dépôt de chromate d'argent : Golgi rapide
b) celles conduisant à un dépôt de mercure métallique : Golgi-Cox.

L'utilisation d'un type ou l'autre de technique (avec différentes variantes) dépend de l'animal utilisé, de son âge, de la région cérébrale étudiée, etc.

Nous avons adopté, pour notre part, la technique de Golgi-Cox, adaptée pour le cortex cérébral par VAN DER LOOS, et décrite notamment en 1956 et 1959. Cette méthode a l'avantage de mettre en évidence suffisamment de cellules avec leurs prolongements et leurs épines dendritiques, qui sont particulièrement bien imprégnées; 1-2% des neurones sont révélés, et cela suffisamment au hasard pour que l'échantillonnage puisse

être considéré comme représentatif de la population neuronale, SMIT et COLON (1969), PASTERNAK et WOOLSEY (1975).

Cependant, selon RAMON MOLINER (1961), SMIT et COLON (1969), le pourcentage des différents types cellulaires, pyramides, cellules en étoile, cellules fusiformes, etc., dans les différentes classes de profondeur sous-piale, n'est pas toujours reproductible : il y a plus de neurones imprégnés au niveau des couches II-III qu'au niveau des couches V-VI, probablement à cause de la tendance de la technique de Golgi à imprégner les neurones en bouquets ("cluster").

Il est donc possible d'utiliser cette technique pour une étude du réseau dendritique ou pour une observation des différents types cellulaires et de leurs connexions, mais pas pour l'évaluation quantitative du pourcentage de ces types cellulaires en fonction de la profondeur sous-piale.

En résumé : la coloration au violet de Crésyl met en évidence tous les neurones et permet leur quantification; mais il n'est pas possible, chez la souris du moins, de distinguer avec sûreté les types cellulaires, pyramides et grains, et donc de les évaluer séparément. La technique de Golgi en revanche le permet; mais les neurones sont imprégnés en paquets et non pas régulièrement dans toute l'écorce, ce qui n'autorise pas l'estimation quantitative précise des différents types cellulaires. En revanche, et c'est dans ce but que nous l'utilisons, elle est particulièrement appropriée pour l'évaluation quantitative du réseau et des épines dendritiques.

5.2. Imprégnation.

Les cerveaux des animaux sont prélevés comme sous 1.3. (âges : 5 - 10 - 15 - 21 - 30 - 60 - 180 jours) et placés directement dans la solution de Cox. Pour améliorer l'imprégnation et raccourcir encore le temps entre la mort de l'animal et la fixation du cerveau, ce dernier est arrosé constamment au cours du prélèvement avec une seringue contenant la solution de Cox. Pour la technique de Golgi, la perfusion est à

éviter, car elle imprégnerait tous les capillaires.

Les éléments suivants entrent dans la composition de la solution de Cox :

- dichromate de potasse 5% (5 volumes)
- chlorure de mercure 5% (5 volumes)
- monochromate de potasse 5% (4 volumes + 10 volumes H_2O distillée).

Après 2 jours, la solution est changée, sans manipulation des cerveaux qui y sont laissés 3 semaines au minimum. Après 3 semaines, un prélèvement est effectué pour contrôler l'imprégnation. Si elle est adéquate, l'enrobage en celloïdine peut être entrepris; sinon les cerveaux sont replacés dans la solution pour 8 jours, puis ils sont à nouveau contrôlés. Quelques essais nous ont permis de constater qu'une durée de 4 semaines était appropriée pour les cerveaux d'animaux de 30 jours et plus, et qu'une durée de 4-5 semaines était efficace pour les cerveaux de 5, 10, 15 et 21 jours. Les cerveaux de 5 jours ont cependant un degré d'imprégnation très faible; certains ne sont même pas imprégnés du tout.

5.3. Enrobage.

Lorsque l'imprégnation est bonne, les cerveaux sont enrobés en celloïdine; après rinçage (30 min.) dans de l'eau distillée, ils sont déshydratés (4 h. : alc. éthylique 50%, 12 h. : alc. éthylique 70%, 24 h. : alc. éthylique 96%, 2 x 12 h. : alc. éthylique absolu, 12 h. : 50% alc. éthylique absolu/50% éther).

L'enrobage en celloïdine se fait de la manière suivante :

3 jours celloïdine 2,5%
3 jours celloïdine 5%
15 jours celloïdine 10%

Dans la celloïdine 10%, les cerveaux sont placés debout, lobes frontaux vers le haut, sur la section plate du mésencéphale (le cervelet ayant été retiré).

5.4. Coupe.

Les cerveaux sont coupés à 100 microns sur un microtome Reichert à glissière, en commençant par l'arrière (lobes occipitaux) et en changeant l'orientation du bloc par rapport au couteau au fur et à mesure de son avancement, de manière à avoir des coupes les plus perpendiculaires possibles à la surface piale de la convexité cérébrale. Cette orientation est la meilleure pour l'analyse quantitative du neuropile (9.).

5.5. Différenciation et montage.

Le noircissement des neurones est obtenu par réduction dans une solution d'ammoniaque distillée à 50% (20 min.), entre deux étapes de rinçage à l'eau distillée (chaque fois 2 x 5 min.). La déshydratation est faite ensuite dans une série d'alcools (1 min. : alc. éthylique 50%, 1 min. : alc. éthylique 70%, 5 min. : xylol). Les coupes sont montées entre lame et lamelle (baume synthétique).

6. METHODE DE CYTOARCHITECTONIE QUANTITATIVE.

6.1. Généralités.

Nous avons vu que la technique de Crésyl violet met en évidence la stratification de l'écorce cérébrale, en colorant toutes les cellules, neurones, cellules gliales et endothéliales (3.1.). Nous pouvons néanmoins distinguer ces divers types cellulaires sur la base de critères structurels tels que dimension du noyau et du périkaryon, délimitation de la membrane nucléaire, qualité du nucléoplasme et du cytoplasme, etc. (6.3.6.). Il est ainsi possible d'établir par comptage les densités neuronales et gliales dans toutes les couches de l'écorce pour un certain nombre de régions*.

* Les cellules endothéliales n'ont pour l'instant pas été comptées.

Nous obtenons alors des normes de population cellulaire, dans le cortex cérébral de la souris, à différents stades du développement. Les variations de densité neuronale et gliale entre deux âges nous permettent d'apprécier la maturation corticale dans chaque couche, tandis que celles entre les animaux témoins et carencés nous informent du degré d'atteinte de ces derniers dans le cortex cérébral.

6.2. Description de la méthode.

Le cortex cérébral d'animaux âgés de 5, 10, 30, 60 et 180 jours, est examiné quantitativement dans les aires suivantes (au niveau indiqué par la figure 2) :

Aire 4 motrice principale
Aire 10 prévision motrice
Aire 3 sensorielle réceptrice
Aire 17 visuelle réceptrice
} selon KRIEG (1946)

Ces aires ont été choisies en raison des fonctions relativement précises qu'elles recouvrent. Les densités neuronales et gliales de chaque couche y sont établies par comptage dans une unité de volume (méthode adaptée de RABINOWICZ (1964).

Nous disposons d'un microscope binoculaire Zeiss, oculaire KPL 8X, objectif immersion néofluar 100X (O.N. 1,30). L'un des oculaires contient un réticule calibré (mesuré au moyen d'un micromètre objectif) de dimension 130 microns x 78 microns correspondant à une surface comptée de 10140 microns^2 (fig. 3). Si nous estimons cette surface à 10000 microns^2 (erreur 1%), nous obtenons, avec des coupes de 25 microns d'épaisseur, une unité de volume de 0,00025 mm^3.

Les comptages sont effectués 10 x, dans chaque couche de chaque aire, à chaque âge, et pour 10 cerveaux par âge.

6.3. Critique de la méthode.

Un certain nombre de points peuvent être relevés :

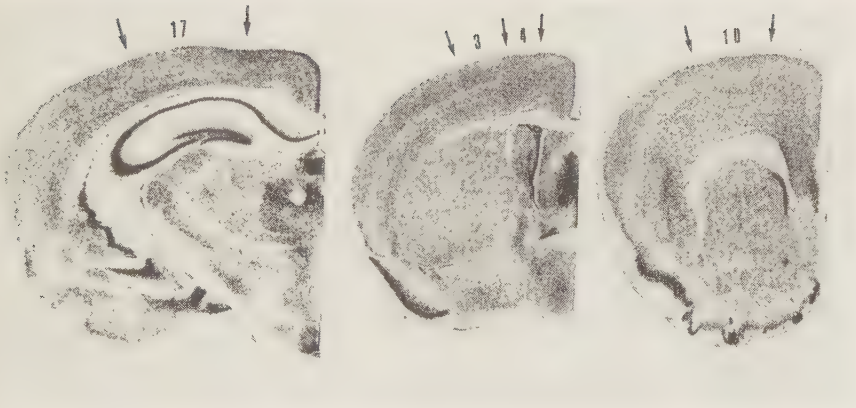


Figure 2 : Localisation des aires 17, 3, 4 et 10 selon KRIEG (1946).

Les flèches indiquent les limites des aires. Les estimations quantitatives ont été faites au centre des quatre aires.

Paraffine, 25 microns; Crésyl violet
Obj. : Luminar 63 mm
Grossissement du négatif : 14,5 X
Grossissement final : 14,5 X

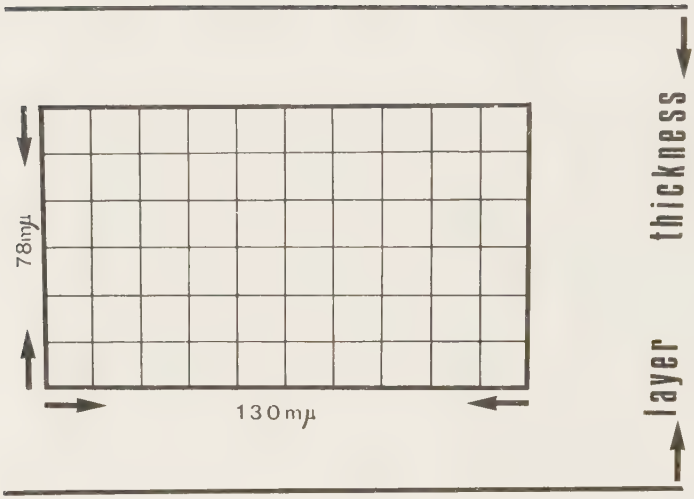


Figure 3 : Dimensions du réticule calibré à l'intérieur d'une couche.

Les noyaux de neurones et de cellules gliales sont comptés à l'intérieur du réticule, carré par carré; les noyaux à cheval sur deux carrés ne sont comptés qu'une fois. Les chiffres obtenus sont ensuite corrigés selon la formule d'ABERCROMBIE (1946), qui tient compte du rapport entre le diamètre du noyau et l'épaisseur de la coupe (6.3.3.).

Pour obtenir le nombre de cellules dans toute l'épaisseur de la couche sur une largeur de 130 microns (8.3.), il faut multiplier le nombre de cellules comptées dans le réticule par le rapport entre l'épaisseur de la couche et la hauteur du réticule (78 microns).

6.3.1. Validité de l'échantillonnage.

Il serait très long d'estimer quantitativement une aire corticale dans son entier; nous avons donc choisi un échantillonnage relativement au "milieu" de l'aire étudiée, aussi bien dans les directions antéropostérieure que latéromédiane (fig. 2), car les limites ne sont pas toujours faciles à déterminer avec précision sur la base de critères uniquement cytoarchitectoniques.

Pour savoir si l'échantillonnage est bien représentatif, nous avons effectué, dans chaque couche, des pointages à différents endroits, en avant, en arrière, sur les bords et aux limites de l'aire envisagée. Les résultats ne diffèrent pas significativement de ceux obtenus dans la partie centrale. La distribution neuronale d'une aire donnée est ainsi suffisamment homogène dans chaque couche, pour permettre l'utilisation de notre technique.

La validité de l'estimation quantitative est envisagée sous 6.3.3.

6.3.2. Erreur de comptage.

Un pourcentage d'erreur peut être démontré lors de comptages répétitifs de la même population neuronale (inattention, fatigue, baisse d'acuité visuelle, qualité du système optique, etc.), RABINOWICZ (1964).

KÖNIGSMARK (1970), dans une revue de nombreux résultats quantitatifs obtenus sur différentes populations neuronales, a relevé que cette erreur variait suivant les auteurs entre 2 et 10%.

Pour nous, elle varie entre 2 et 5% et dépend aussi de la densité des cellules comptées, beaucoup plus forte dans les cerveaux immatures. C'est une des raisons pour lesquelles notre étude commence à 5 jours postnatal seulement.

Les coupes n'ont pas été codées, mais l'absence de références dans la littérature a créé une situation de travail "en aveugle". De plus les comptages ont été vérifiés par notre collègue D. HEUMANN.

6.3.3. Erreur due à des cellules coupées.

Il existe un risque important de surestimation du nombre des cellules comptées, dû à la présence de la même cellule dans deux coupes adjacentes. Le pourcentage de surestimation dépend du rapport entre l'épaisseur de la coupe et la dimension (diamètre) de l'élément quantifié. Nous comptons les noyaux de neurones et de cellules gliales plutôt que les cellules, pour éviter les fragments cellulaires. Nous n'utilisons pas le critère du nucléole, car de nombreux noyaux en ont plusieurs surtout dans les stades immatures.

Plus le diamètre du noyau est grand et/ou plus la coupe est mince, plus nous avons de risques de le compter deux fois sur deux coupes successives. Nous utilisons des coupes épaisses (25 microns), par rapport au diamètre nucléaire moyen (environ 10 microns), mais un certain pourcentage d'erreur subsiste; celui-ci est supprimé lors de l'utilisation d'une correction appropriée.

Nous utilisons la formule d'ABERCROMBIE (1946) pour corriger nos chiffres de densité cellulaire.

$$N = n \times \frac{t}{t + d}$$

où N = nombre corrigé
n = nombre compté
t = épaisseur de la coupe
d = diamètre du noyau.

Pour plus de détails, dans ces problèmes de stéréologie du système nerveux, on peut se référer aux travaux de ABERCROMBIE (1946), HAUG (1956; 1972), RABINOWICZ (1964), KÖNIGSMARK (1970) etc.

5.3.4. Epaisseur de la coupe.

Les cerveaux ont été coupés en série à 25 microns (2.2.). L'épaisseur est fixée une fois pour toutes sur le microtome. Pour un certain nombre de coupes choisies au hasard, elle a été vérifiée au moyen de la vis micrométrique.

L'erreur est considérée comme négligeable.

5.3.5. Identification des aires (fig. 2 et 6).

L'identification des aires choisies ne pose pas de problème à l'âge adulte. Nous avons utilisé les atlas de ROSE (1929) et de KRIEG (1946) (fig. 6).

La description de ROSE (1929) a été faite chez la souris, mais n'est pas complète; en particulier l'aire 10 n'a pas été identifiée comme aire distincte. KRIEG (1946) a fait une étude chez le rat, complétée par une comparaison avec les résultats de ROSE (1929) et une discussion des différences et similitudes. Les aires que nous avons étudiées ont ainsi été décrites avec une précision suffisante pour permettre une identification certaine à partir de 10 jours, cela d'autant plus que nous avons toujours effectué les comptages au même endroit de l'aire, aussi bien dans les directions antéropostérieure que latéro-médiane par rapport à des repères sous-corticaux fixes, décrits dans les atlas de ROSE (1929) et de KRIEG (1946).

Le problème se pose pour des animaux en-dessous de 10 jours. Le cerveau de la souris est très immature à la naissance et les différentes aires et couches corticales sont mal identifiables. C'est pourquoi notre étude commence à 5 jours. A cet âge, la mise en place des couches est partielle et un certain nombre de critères présents à l'âge adulte permettent d'assurer, avec l'aide des atlas, la localisation des aires et des couches de manière suffisamment précise pour nos comptages.

.3.6. Identification cellulaire (fig. 4 et 5)

L'identification des neurones sur coupes en paraffine pose peu de problèmes à partir de 10 jours (fig. 4); cependant,

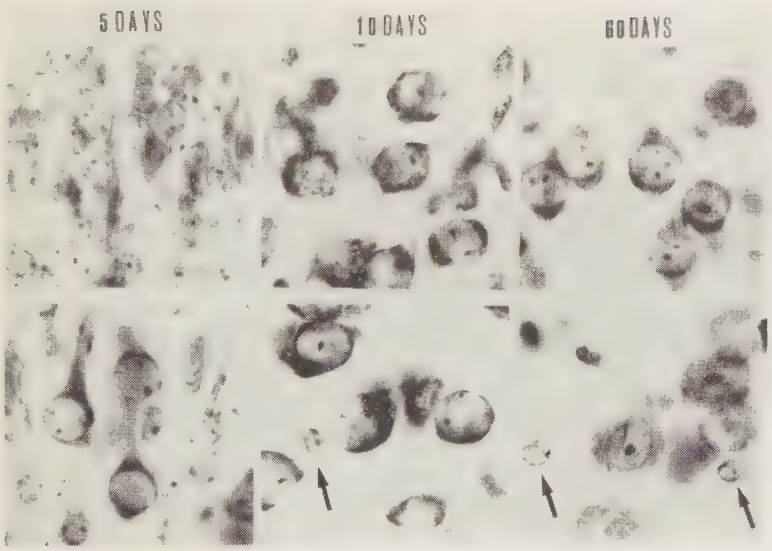
chez la souris et sur une coloration au Crésyl violet, il est très difficile à tout âge de distinguer les petites pyramides des grains. Seules peuvent être distinguées des autres types neuronaux, en raison de leur taille, les grosses pyramides de la couche V.

Les cellules gliales peuvent également être identifiées (fig. 4), mais la distinction en différents types gliaux, astrocytes, oligodendrocytes et microgliocytes, reste aléatoire sur des coupes en paraffine colorées au Crésyl violet, LING et LEBLOND (1973); cela d'autant plus qu'il existe un certain nombre de formes intermédiaires, SMART et LEBLOND (1961), CALEY et MAXWELL (1968a), LING et LEBLOND (1973). Les cellules gliales ont donc été comptées globalement, sans différenciation de type.

A partir de 10 jours, la discrimination entre neurones et cellules gliales s'établit sur deux critères principaux, dimension des noyaux (neurones : $\sim$10 microns; cellules gliales: $\sim$5 microns) et absence de cytoplasme visible pour les cellules gliales (fig. 4). La présence d'un nucléole prédominant ainsi que la qualité de la membrane nucléaire et du nucléoplasme peuvent aussi permettre de distinguer les neurones. A 5 jours, les noyaux de neurones sont presque toujours reconnaissables (fig. 4 et 5); cependant, la démarcation précise entre petits noyaux de neurones immatures et noyaux de cellules gliales est parfois difficile. Nous avons considéré à cet âge les cellules gliales comme des "glial-like" (fig. 5).

7. MESURE DE L'EPAISSEUR CORTICALE.

Pour l'estimation du volume cortical (8.2.) nous devions disposer de coupes en série et pour l'établissement des densités cellulaires de coupes frontales. Les coupes ont été faites perpendiculairement au grand axe interhémisphérique antéropostérieur et ne sont pas rigoureusement perpendiculaires à la surface corticale, par suite de la courbure des hémisphères



igure 4 : Identification des neurones et cellules gliales (aire 17).

Ligne supérieure de gauche à droite : dans les couches II-III, neurones et neuroblastes à 5 jours, neurones à 10 jours, neurones à 60 jours.
Ligne inférieure de gauche à droite : dans la couche V, neurones à 5 jours, 10 jours et 60 jours. Les flèches indiquent des cellules gliales.

Paraffine, 25 microns; Crésyl violet
Obj. : Zeiss planapochromat 100 X/1.3, immersion
Ocul. : Proj. ultraphot II
Grossissement du négatif : 1000 X
Grossissement final : 2000 X

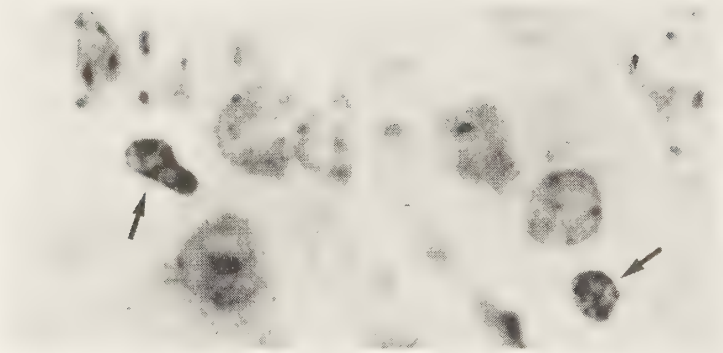


Figure 5 : Cellules gliales "glial-like" (flèches) à 5 jours, dans l'aire 10.

On peut noter aussi sur la photo de gauche 3 noyaux de neuroblastes, avec de nombreux nucléoles et très peu de cytoplasme; le noyau inférieur présente déjà un nucléole proéminent et est entouré de plus de cytoplasme.
Sur la photo de droite, on observe un noyau de neuroblaste et un noyau de neurone plus mature.

Paraffine, 25 microns; Crésyl violet
Obj. : Zeiss planapochromat 100 X/1.3, immersion
Ocul. : Proj. ultraphot II
Grossissement du négatif : 1000 X
Grossissement final : 2000 X

cérébraux (fig. 6). Les épaisseurs mesurées de l'écorce ne correspondent pas exactement aux épaisseurs réelles, bien que l'erreur soit réduite par l'élimination des parties les plus convexes, frontales et occipitales. Ces mesures d'épaisseurs doivent donc être appréciées en tenant compte de ce fait, particulièrement pour l'aire 10 dont la convexité est déjà très forte; elles vont essentiellement nous permettre les calculs décrits sous 8.2. Le prélèvement de petits blocs perpendiculaires à la surface est techniquement très difficile et aurait empêché l'obtention de données sur le volume cortical. Considérant que la position relative d'une aire varie peu au cours du développement, nous pouvons cependant comparer les épaisseurs d'une aire d'un âge à l'autre ou dans différentes conditions expérimentales au même âge. La comparaison d'aires adjacentes sur le même plan frontal est aussi possible, mais par contre, celle d'aires éloignées dans la direction antéro-postérieure ne l'est plus.

. ESTIMATION DU VOLUME CORTICAL ET DU NOMBRE TOTAL DE CELLULES.

.1. Généralités.

Nous verrons dans les chapitres suivants que, si les variations de densité neuronale et gliale dans les différentes couches corticales nous permettent de suivre la maturation de l'écorce ou d'évaluer son atteinte lors d'une carence nutritionnelle, elles ne nous disent rien en revanche sur l'évolution du nombre total de neurones et de cellules gliales avec l'âge ou dans différentes conditions expérimentales. Y a-t-il diminution ou augmentation ou bien les variations observées reflètent-elles des variations du volume cortical total ? C'est à cette question que nous avons tenté de répondre en estimant quantitativement les trois points suivants :

Figure 6 : Vue latérale de l'hémisphère cérébral gauche du rat adulte. Délimitation des aires selon KRIEG (1946).

Les lignes donnent l'orientation du plan des coupes frontales, perpendiculaires au grand axe interhémisphérique antéropostérieur. Dans notre matériel les hémisphères ont été coupés en série.

- Volume cortical relatif entre des limites anatomiques choisies, (8.2.).

- Nombre de neurones ou de cellules gliales dans un échantillonnage cortical (couches I à VI), (8.3.).

- Nombre total de neurones ou de cellules gliales dans le volume cortical relatif, (8.4.).

.2. Estimation du volume cortical.

La mesure du volume cortical est faite selon la méthode de KÖNIGSMARK (1970) :

a) Projection et dessin de la surface corticale toutes les 5 coupes, dans la direction caudorostrale; puis mesure à l'aide d'un planimètre (Amsler 800/14807).

b)Multiplication de la somme des surfaces mesurées par l'épaisseur de la coupe et le nombre de coupes, et division par le carré du facteur d'agrandissement de l'appareil, selon la formule suivante :

$$V = \frac{\sum_{i=1}^{i=n} i \text{ surfaces } (mm^2) \times 25.10^{-3} mm \times 5}{F \text{ (agrandissement)}^2}$$

où i = nombre de coupes dont la surface a été mesurée à l'intérieur du volume choisi.

Ces mesures sont effectuées à chaque âge pour les dix cerveaux dans lesquels nous avons établi nos comptages cellulaires.

Le volume cortical H est mesuré sur la base de critères anatomiques entre des limites choisies arbitrairement (en collaboration avec D. HEUMANN) soit, latéralement, scissure rhinale, médialement, d'abord subiculum puis scissure interhémisphérique, caudalement, apparition du stratum granulosum de la corne d'Ammon, rostralement, fin des fibres calleuses interhémisphériques (fig. 7). En avant et en arrière de ces limites, le néocortex présente une organisation moins régulière; latéralement on trouve le paléocortex et médialement, le subiculum puis le corps calleux.

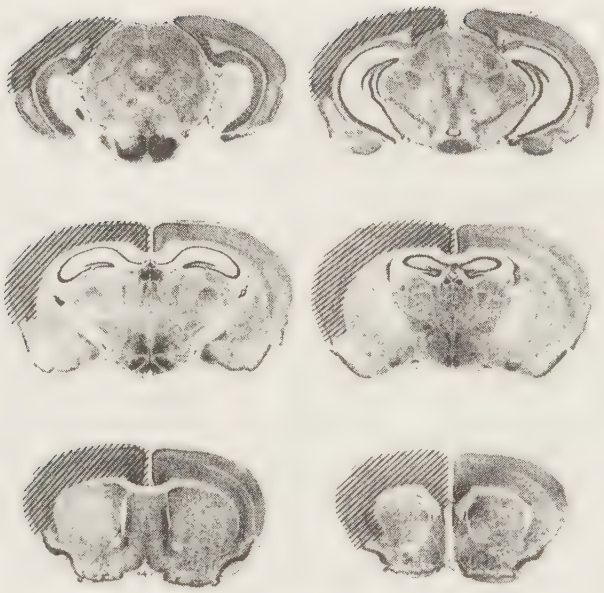


Figure 7 : Limites du volume cortical H.

Le volume cortical a été mesuré entre les limites anatomiques suivantes :

latéralement	:	scissure rhinale
médialement	:	d'abord subiculum, puis scissure interhémisphérique
caudalement	:	apparition du stratum granulosum de la corne d'Ammon
rostralement	:	fin des fibres calleuses interhémisphériques.

Les hachures indiquent la surface corticale mesurée à six niveaux différents dans la direction caudorostrale.

.3. Estimation du nombre de cellules dans un échantillonnage cortical.

Le nombre de cellules (neurones et cellules gliales) a été établi couche par couche pour l'appréciation de la maturation différentielle dans les quatre aires étudiées.

Il est néanmoins nécessaire de connaître le nombre moyen de cellules sur toute l'épaisseur de l'écorce, pour quelques régions comprises dans le volume cortical mesuré, afin de disposer d'un échantillonnage représentatif de la population cellulaire à l'intérieur de ce volume. Ce fait nous permettra ensuite d'estimer le nombre total de cellules pour le volume donné.

Nous aurions pu recompter le nombre de neurones et de cellules gliales sur toute l'épaisseur corticale à l'intérieur d'une colonne continue de la couche I à la couche VI. Mais nous avons préféré utiliser une méthode de calcul mise au point dans notre laboratoire par D. HEUMANN, pour obtenir cet échantillonnage cortical à partir des résultats déjà existants dans toutes les couches.

Pour chaque cerveau et dans chaque aire, les opérations suivantes sont effectuées :

a) Le nombre de neurones ou de cellules gliales compté dans l'unité de volume à l'intérieur de chaque couche, puis corrigé selon ABERCROMBIE (1946), est rapporté à l'épaisseur totale de la couche en question :

$$N_{I..VI} = \text{nombre compté / réticule} \times \frac{\text{ép. couches I....VI}}{78 \text{ microns}}$$

= nombre total de cellules dans chaque couche sur une dimension de 130 microns (fig. 3, p. 27).

b) Les chiffres obtenus de la même façon pour chaque couche sont additionnés afin d'obtenir la valeur correspondant à l'épaisseur corticale totale :

$N = \sum_{i=I}^{i=VI} Ni$ = Nombre de cellules sur toute l'épaisseur corticale (couches I à VI) pour une dimension de 130 microns et pour une aire donnée.

c) La valeur obtenue sous b) est rapportée à une épaisseur théorique de 1000 microns. Cette épaisseur a été choisie afin de disposer d'un parallélipipède cortical unitaire identique dans toutes les aires qui, elles, ont des épaisseurs variables :

$$Ncor. = \frac{N \times 1000}{\text{épaisseur corticale de l'aire}}$$ = Nombre total de cellules dans parallélipipède unitaire de 130 microns x 1000 microns x 25 microns = 0,00325 mm^3

où 130 microns = largeur du parallélipipède = largeur du réticule unitaire.

1000 microns = hauteur du parallélipipède = épaisseur corticale théorique.

25 microns = profondeur du parallélipipède = épaisseur de la coupe de cortex.

8.4. Estimation du nombre total de cellules dans le volume cortical.

Nous utilisons les chiffres obtenus dans les parallélipipèdes (vol. = 0,00325 mm^3) de toutes les aires étudiées. Nous avons observé que les variations des nombres de cellules n'étaient pas très grandes d'une aire à l'autre. Ce fait nous permet d'effectuer une "randomisation" en utilisant les chiffres de populations neuronales et gliales des aires situées dans le volume H, cela pour chacun des 10 cerveaux à chaque âge.

Puis, nous rapportons le nombre de cellules obtenues dans le parallélipipède "randomisé" au volume H, ce qui nous donne le nombre total de cellules dans le volume cortical selon la formule :

$$\text{Nombre de cellules dans le parallélipipède "randomisé"} \times \frac{\text{Vol. cortical H}}{\text{Vol. parallélipipède}} = \text{Nombre total de cellules}$$

Enfin, nous effectuons la moyenne pour les 10 cerveaux à chaque âge.

ANALYSE QUANTITATIVE DU NEUROPILE *.

7.1. Généralités.

Nous avons vu que la technique de Golgi permet d'imprégner un faible pourcentage de neurones, mais avec tout leur réseau dendritique et leurs épines (5.1.).

Notre objectif est d'utiliser cette méthode pour la quantification du nombre d'épines sur le dendrite apical et du nombre de branchements dendritiques autour du corps cellulaire.

Les variations de ces deux paramètres nous fournissent un autre critère que les variations de la densité neuronale (6.1.) pour apprécier la maturation corticale et les dommages subis lors de déprivations nutritionnelles.

Les épines dendritiques représentent des contacts synaptiques particuliers, GRAY (1959), WHITTAKER et GRAY (1962), HAMLYN (1961). On les trouve principalement sur les pyramides, dendrite apical, dendrites obliques et basaux, COLONNIER (1964), GLOBUS et SCHEIBEL (1967a), bien que certains auteurs en aient décrit sur les dendrites des cellules en étoile à axone court, GAREY (1971), LUND (1973).

La répartition de ces épines sur les dendrites n'est pas homogène et suit des courbes différentes pour les divers types de dendrites, GLOBUS et SCHEIBEL (1967a). En particulier, sur le dendrite apical, le segment initial est pratiquement dépourvu d'épines et la distribution subit ensuite une courbe avec trois points d'inflexion dont le maximum est situé à la moitié environ du dendrite, GLOBUS et SCHEIBEL (1967a) chez le lapin, MARIN-PADILLA (1967) chez l'enfant, MARIN-PADILLA et STIBITZ (1968) chez le hamster, VALVERDE (1967 ; 1968) chez la souris, KUNZ et al. (1974) chez le rat.

* Nous utilisons ici et dorénavant le terme neuropile dans le sens restreint de quantité de connexions neuronales, dendrites épines, etc., et non dans le sens plus général de matière intercellulaire.

Si nous envisageons un segment de dendrite apical, toujours au même niveau et sur le même type de cellules pyramidales, nous pouvons alors évaluer quantitativement le nombre d'épines sur ce segment au cours du développement et dans différentes conditions expérimentales (fig. 8). Cette mesure nous renseigne sur le degré de maturation synaptique.

L'estimation quantitative du nombre de branchements dendritiques autour du périkaryon, pour les mêmes types cellulaires, nous apporte également des indications sur la maturation des connexions neuronales dans l'écorce normale et carencée : elle nous informe à la fois de la quantité de branchements dendritiques et de leur répartition en fonction de la distance au corps cellulaire (fig. 8).

Ces trois types d'informations (nombre d'épines sur un segment de dendrite apical, nombre de branchements dendritiques, distribution dendritique) permettent de suivre assez bien l'évolution du neuropile et de la corréler avec les variations de densité cellulaire (6.1.).

9.2. Estimation du nombre d'épines dendritiques sur un segment de dendrite apical.

9.2.1. Description de la méthode.

Nous avons compté le nombre d'épines sur le dendrite apical des pyramides de la couche V et sur celui des pyramides de la couche III, dans la région visuelle (aire 17).

L'estimation est faite sur une portion de dendrite apical de 50 microns de long, à une distance de 100-150 microns du corps cellulaire, pour les pyramides de la couche V, c'est-à-dire au niveau de la couche IV, là où le dendrite apical émet des collatérales perpendiculaires, et à 50-100 microns du corps cellulaire pour les pyramides de la couche III.

Les comptages sont effectués avec le même microscope que pour la cytoarchitectonie quantitative, mais avec un grossissement plus fort : Zeiss binoculaire, grossissement : Kpl 20 X,

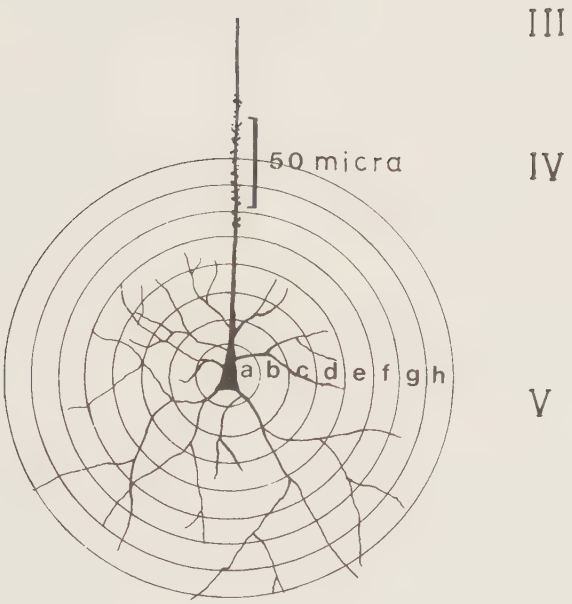


Figure 8 : Dessin d'un neurone pyramidal imprégné au Golgi.

Le corps cellulaire se trouve dans la couche V. Les épines sont comptées sur un segment de dendrite apical de 50 microns de long au niveau de la couche IV. Les intersections de dendrites avec des cercles concentriques (méthode de SHOLL, 1953) sont comptées tous les 9,42 microns jusqu'à une distance de 75,36 microns du périkaryon (cercles a à h).

objectif immersion néofluar 100 X (O.N. 1,30). L'un des oculaires contient une échelle finement graduée dont l'étalonnage au micromètre objectif nous permet le repère d'une distance de 50 microns (fig. 8).

Dix cerveaux sont examinés à chaque âge (10 - 15 - 21 - 30 - 60 - 180 jours). Dans chaque cerveau (région visuelle) 10 pyramides de la couche V et 10 pyramides de la couche III sont analysées. Les comptages d'épines sont effectués deux fois sur le même segment de dendrite; nous utilisons la moyenne des deux mesures.

9.2.2. Sources d'erreurs et correction.

Les épines dendritiques sont distribuées tout autour du dendrite et non pas seulement de chaque côté.

En jouant avec la vis micrométrique pour la profondeur du champ ainsi qu'avec le diaphragme, nous arrivons à distinguer également, au grossissement utilisé (2000 X), une bonne partie des épines qui sont distribuées sur la face cachée du dendrite (face inférieure) mais dépassant sur les côtés. De même les épines dirigées perpendiculairement au plan de la coupe sur la surface supérieure du dendrite sont visibles par jeu de réfringence. Les épines qui nous échappent sont celles qui sont situées perpendiculairement au plan de la coupe et complètement sous le dendrite.

Nous avons alors utilisé la correction suivante :
ayant compté séparément le nombre d'épines situées perpendiculairement au plan de la coupe sur le dendrite, et, considérant que la répartition des épines est homogène sur l'ensemble des 50 microns, nous avons doublé ce chiffre pour tenir compte des épines cachées de la face inférieure du dendrite et l'avons ajouté au résultat obtenu sur ses côtés (cf. chap. II, 10.1.2.).

Il faut cependant tenir compte du fait suivant :
la dimension moyenne d'une épine est de 2-3 microns; si le dendrite mesure plus de 3 microns de diamètre, un grand nombre

d'épines vont échapper à l'observation; nous avons ainsi restreint notre étude à des dendrites mesurant au plus 3 microns de diamètre. De plus, les épines sur le dendrite ne sont visibles qu'à condition que l'imprégnation ne soit pas trop foncée, il faut veiller à comparer des dendrites de même degré d'imprégnation.

3. Estimation du degré de branchement dendritique.

3.1. Description de la méthode.

Le degré de branchement dendritique est estimé dans les 10 cerveaux (même région et mêmes âges) pour 10 pyramides de la couche V et 10 pyramides de la couche III par la méthode de SHOLL (1953).

L'un des oculaires du microscope contient une série de cercles concentriques et équidistants; leur centre est placé au centre du corps cellulaire et nous comptons les intersections dendritiques avec chaque cercle (fig. 8). Le nombre moyen des intersections avec un certain nombre de cercles, donne une indication sur le degré de branchements dendritiques, tandis que le nombre d'intersections dendritiques avec chaque cercle fournit une appréciation de la distribution en fonction de la distance au corps cellulaire (9.1.).

Nous utilisons le microscope binoculaire Zeiss, grossissement: oculaire Kpl 8 X, objectif 63 X (O.N. 0,9).

Avec ce grossissement la distance entre deux cercles mesurée à l'aide d'un micromètre objectif est de 4,71 microns; nous effectuons nos mesures tous les deux cercles, c'est-à-dire à chaque 9,42 microns du corps cellulaire (fig. 8). Nous indiquons ces valeurs parce que nous verrons que la distance du nombre maximum d'intersections dendritiques au périkaryon représente un critère de maturation (chap. II, 8.4.).

9.3.2. Critique de la méthode.

SMIT et COLON (1969) estiment que 50% environ des neurones imprégnés au Golgi-Cox-Van der Loos ne sont pas analysables quantitativement pour diverses raisons. L'une d'elles (18% des neurones non-analysables) est le recouvrement de la cellule par d'autres cellules voisines, en particulier par leurs plexus dendritiques. Nous pouvons éviter cette source d'erreur en choisissant des neurones relativement isolés et en ne comptant pas au-delà d'une certaine distance (16 cercles = 75,36 microns) du périkaryon.

Un plexus dendritique incomplet, des dendrites coupés par le plan de la coupe, peuvent constituer une autre source d'erreur; 40% des neurones non-analysables de SMIT et COLON (1969) le sont pour cette raison. Cependant, des coupes épaisses (100 microns) et perpendiculaires à la surface piale permettent en général de suivre les dendrites assez loin. Nous choisissons la plupart du temps des neurones entiers, mais ceux dont le dendrite apical est partiellement coupé sont encore quantifiables, puisque nous n'allons pas au-delà de 75 microns du corps cellulaire.

Les autres causes d'erreur relevées par SMIT et COLON (1969) ont trait au degré d'imprégnation, aux taches de précipité de la solution de Golgi-Cox (25%), et au fait que les neurones sont trop près de la surface de la coupe. Il suffit alors de sélectionner des neurones qui ne sont pas touchés par ces phénomènes.

On pourrait à juste titre se poser la question de la validité de l'échantillonnage avec toutes ces restrictions. Mais, c'est en tenant compte de ces dernières que SMIT et COLON (1969), comme d'ailleurs PASTERNAK et WOOLSEY (1975), sont arrivés à la conclusion que l'échantillonnage fourni par la technique de Golgi-Cox était représentatif de la population neuronale (5.1.).

10. ANALYSE STATISTIQUE DES RESULTATS.

Tous les résultats quantitatifs, densités neuronales et gliales, volumes corticaux, nombres totaux de cellules, nombres d'épines sur un segment de dendrite apical et nombres d'intersections dendritiques autour du périkaryon, sont analysés statistiquement au moyen de tests de Student. L'analyse porte, d'une part sur les différences entre les âges pour chaque série d'animaux (série témoin, série sous-nutrition postnatale, série malnutrition protéique chez la mère) et d'autre part, sur les différences à chaque âge (5 - 10 - 15 - 21 - 30 - 60 - 180 jours) entre la série témoin et chacune des deux séries expérimentales.

En raison de différents facteurs, les chiffres concernant l'épaisseur corticale et le diamètre nucléaire neuronal ne subissent pas d'analyse statistique (chap. II, 4.1., 5.).

Les pourcentages sont exprimés soit en % de la valeur maximale, soit en % de la valeur témoin.

CHAPITRE II

MATURATION CORTICALE NORMALE

1. INTRODUCTION.

1.1. Historique.

On sait aujourd'hui que le développement du cortex cérébral des mammifères se poursuit en 4 étapes principales, DAVISON et DOBBING (1968) :

1. Migration neuronale et formation du cortex avec mise en place des couches.
2. Pic de croissance rapide de la majeure partie des paramètres histologiques, électrophysiologiques, biochimiques et comportementaux.
3. Développement fin plus quantitatif que qualitatif de ces paramètres durant la période de maturité.
4. Sénescence.

C'est la place de la naissance qui varie d'une espèce animale à l'autre dans ce schéma général, au début, au cours ou à la fin de la 2ème période, dite du "Brain Growth Spurt".
Chez la souris, la naissance est située au début de la 2ème période; cela en fait ainsi un animal entièrement postnatal pour son pic de croissance cérébral rapide et nous fournit un bon modèle pour l'étude de ce phénomène au niveau de la cyto-architectonie corticale.

La première période, totalement intra-utérine (seconde moitié de la gestation), échappe à l'investigation de nos méthodes, et a été du reste fort étudiée par un grand nombre d'auteurs. Nous allons tenter de la résumer succinctement, car son importance est considérable pour la suite du développement cortical. Les périodes suivantes en revanche peuvent être approchées par des méthodes d'histologie quantitative et constituent le but de notre recherche.

.1.1. Migration neuronale et mise en place des couches.

Le cortex cérébral se forme à partir de migrations successives de cellules épendymaires primitives qui se sont divisées un certain nombre de fois dans la paroi du tube neural. Autour de 1900, l'idée de base développée par SCHAPER (1897), HIS (1904), CAJAL (1911), était qu'il y avait, dès la formation du tube, deux populations de cellules : neuroblastes donnant les neurones et spongioblastes les cellules gliales. Cette idée fut remise en cause par SAUER en 1935, qui montra que l'aspect des cellules dans le tube neural était à mettre en corrélation avec leur contenu en DNA, d'où l'hypothèse, vérifiée par la suite, d'une migration des cellules souche entre les deux bords épendymaires, interne et externe, avec duplication du DNA au bord externe et division au bord interne.

FUGITA, en 1963, montra que, chez l'embryon de poulet marqué à la thymidine H_3*, le pourcentage de cellules marquées augmentait linéairement avec le temps et atteignait 100%. Il en conclut que la couche matricielle était composée d'une population fonctionnellement homogène, à différents stades de la phase mitotique, et non de deux types cellulaires distincts. Les neuroblastes commencent à se différencier au moment où, sortis de la matrice ou zone épendymaire, ils migrent en colonnes successives dans le manteau cortical. Le cortex cérébral est formé à ce stade, de la zone épendymaire ou matrice, de la zone subépendymaire, du manteau cortical et de la zone marginale externe.

ANGEVINE et SIDMAN (1961), BERRY et ROGERS (1965), ALTMAN et DAS (1966), HICKS et d'AMATO (1968), RICE (1974), BRÜCKNER et al. (1976), montrèrent tous, par marquage des cellules épendymaires à différents stades de la gestation (rat, souris), que la mise en place des couches corticales se fait de l'intérieur vers l'extérieur, les premières étant les couches V et VI, et que les plus superficielles sont mises en place successivement, par migration à travers les couches déjà formées.

Selon HICKS et d'AMATO (1968), les premières cellules gliales destinées au cortex apparaîtraient au 20e jour de gestation chez la souris et atteindraient le cortex 2-3 jours plus tard.

Le temps de migration est d'autant plus long, de la zone matricielle à destination, que le développement est avancé. Cette observation fut confirmée par MELLER et al. (1966) en microscopie électronique, démontrant que c'est à partir du 20e jour de gestation seulement (souris) que l'on distingue deux types cellulaires dans la matrice : neuroblaste d'une part, et glioblaste avec noyau lobulé, plus osmiophile et cytoplasme plus foncé de l'autre.

A la naissance le nombre de neurones est en principe acquis. Il n'y a plus de cellules marquées identifiées comme neurones dans le cortex cérébral, si l'on effectue le marquage à partir de la naissance, sauf pour quelques régions particulières où la migration se poursuit jusqu'au 20e jour postnatal environ : cervelet, bulbe olfactif, hippocampe, ANGEVINE (1965), ALTMAN et DAS (1966), ALTMAN (1969). Seuls HICKS et d'AMATO (1968) soutiennent que les cellules nées du 19e au 20e jour de gestation forment des colonnes, qui entrent dans le cortex à peu près à la naissance et vont mettre encore 5-7 jours pour atteindre les couches externes; parmi ces cellules, il y a des microneurones et des cellules gliales. Pour tous les auteurs précités, les grosses pyramides, dans toutes les régions cérébrales, sont formées prénatalement.

Ce mode de mise en place corticale a été confirmé chez le mouton par ÅSTROM (1967), chez le hamster par SHIMADA et LANGMAN (1970), chez le lapin par FERNANDEZ et BRAVO (1974) et chez le singe par RAKIC (1974). Le mode de migration neuronale par contre est plus controversé. De nombreux travaux présentent à l'heure actuelle des évidences en faveur d'une migration active du neuroblaste depuis la paroi ventriculaire jusqu'à la plaque corticale, en utilisant pour guide, d'abord les premières fibres thalamocorticales, puis les fibres gliales, RAKIC (1972), PETERS et FELDMAN (1973), DERER (1974).

1.1.2. Maturation postnatale.

A la naissance le cortex cérébral du rat ou de la souris est très immature, EAYRS et GOODHEAD (1959), KOBAYASHI et al. (1963). La lamination des couches n'est pas établie; seule la couche I, correspondant à la marginale externe du cerveau

embryonnaire est déjà bien individualisée. Dans la plaque corticale, on peut deviner la couche V à la présence de plus grandes cellules et la couche VI à sa position sous la couche V, tandis que les couches II à IV forment une zone sans démarcation précise. La densité cellulaire est extrêmement élevée et les cellules, très petites, sont souvent rassemblées en amas, en colonnes. La maturation à proprement parler commence à ce moment-là.

A part le travail déjà ancien de SUGITA (1918 a), un certain nombre d'auteurs ont étudié différents paramètres du développement cortical postnatal chez le rat ou la souris : territoire cellulaire défini comme le volume cortical rapporté au nombre de neurones qu'il contient, HADDARA (1956); coefficient cellules/volume gris, densités axonales et dendritiques, EAYRS et GOODHEAD (1959); volume du noyau et du périkaryon et densité neuronale à travers toute l'écorce, BRIZZEE et JACOBS (1959); développement cytoplasmique et réseau vasculaire, CALEY et MAXWELL (1968 b; 1970), développement synaptique (en microscopie électronique), CRAGG (1967), AGHAJANIAN et BLOOM (1967), ARMSTRONG-JAMES et JOHNSON (1970), KRISTT et MOLLIVER (1976).

Des études de ce type ont également été faites chez d'autres animaux que le rat ou la souris : le lapin, SCHADE et al. (1964), STENSAAS (1968); le hamster, PTACEK et FAGAN-DUBIN (1974); le chat, PURPURA et al. (1964), CRAGG (1975a); le chien, MOLLIVER et VAN DER LOOS (1970); le singe, KEMPER et al. (1973); l'enfant humain, MARIN-PADILLA (1970), CONEL (1939-1967).

2. Situation du problème.

En dépit de ces travaux, tous les facteurs concourant à la maturation de l'écorce cérébrale sont encore loin d'être élucidés. En particulier les aspects quantitatifs de la dynamique corticale dans toutes les couches et dans plusieurs régions en parallèle n'ont pas été étudiés, ni suivis sur une longue période, et les différents paramètres de maturation ont souvent été examinés à des moments et sur des animaux différents, rendant toute comparaison difficile.

La première partie de notre travail a ainsi pour but de permettre une meilleure compréhension du développement cortical et des rapports complexes existant entre les différents paramètres. Il ne s'agit pas d'un type d'expérimentation distinct de la déprivation nutritionnelle (chap. III et IV) puisque ce sont les animaux témoins dans nos expériences de dénutrition, qui fournissent, sur le développement morphologique normal du cortex cérébral, des informations à plusieurs niveaux.

L'étude de cytoarchitectonie quantitative nous permet d'apprécier la maturation différentielle de l'écorce entre 5 et 180 jours grâce à l'établissement des densités neuronales et gliales dans toutes les couches et dans quatre régions différentes, et grâce aussi à l'étude de leurs variations au cours du développement. Des mesures de dimension de noyaux et d'épaisseur de couches complètent cette investigation.

L'approche cytoarchitectonique ne nous renseigne toutefois pas sur les relations possibles entre le volume du cortex cérébral et la densité cellulaire ni sur l'évolution du nombre total des cellules au cours du développement. C'est pour cette raison qu'une estimation du volume cortical et des nombres totaux de cellules a également été entreprise entre 5 et 180 jours.

Enfin, nous avons essayé de mieux cerner les liens entre l'évolution de la densité cellulaire et celle du neuropile par la quantification de ce dernier dans deux de ses aspects : le nombre d'épines sur un segment de dendrite apical et le nombre de branchements dendritiques autour du périkaryon pour les neurones pyramidaux des couches III et V.

. CROISSANCE DES ANIMAUX.

.1. Croissance corporelle (fig. 19 et 31)*.

La croissance des animaux normaux élevés dans notre laboratoire se poursuit de manière tout à fait conforme à celle des animaux élevés à IFA CREDO. La croissance est lente mais régulière jusqu'à 21 jours, pendant la période de lactation; entre le sevrage et la puberté (21-35 jours), elle est beaucoup plus rapide, puis à nouveau plus lente jusqu'à 50-55 jours. A partir de ce moment, la courbe atteint un plateau, mais une faible prise de poids se poursuit néanmoins jusqu'à 180 jours. A 21 jours, le poids des animaux représente le 30% de ce qu'il sera à 180 jours, à 35 jours le 67%, à 60 jours le 87% et à 90 jours le 96%.

.2. Croissance cérébrale. (Tab. 1)

La croissance cérébrale a été évaluée par la mesure du poids des hémisphères, séparés du cervelet, du tronc cérébral et des bulbes olfactifs, après fixation (cerveaux prélevés pour les mesures de cytoarchitectonie quantitative à 5, 10, 30, 60 et 180 jours). Le poids des hémisphères représente à 5 jours le 34% de sa valeur adulte, atteinte à 30 jours, et à 10 jours le 63%. Il y a donc une forte augmentation de poids entre 5 et 10 jours, puis entre 10 et 30 jours. A 30, 60 et 180 jours le poids des hémisphères n'est pas significativement différent, malgré une légère baisse à 60 et 180 jours par rapport à 30 jours.

Nous remarquons ainsi que le pic de croissance des hémisphères cérébraux précède le pic de croissance corporelle chez la souris.

* Les valeurs de croissance des animaux normaux présentent surtout un intérêt pour la comparaison avec celles des animaux sous-alimentés après la naissance (chap. III, 2.1.) ou celles des petits de mère mal nourrie (chap. IV, 2.1.); les figures 19 et 31 se trouvent donc incluses dans ces chapitres.

DAYS	HEM. $\overline{X}$	WEIGHT (g) SEM	% of max. value
5	0,123 [1]	0,004	33,3
10	0,223 [2]	0,006	61,1
30	0,362	0,008	100
60	0,352	0,005	97,2
180	0,351	0,005	97,2

1) $p < 0,001$ versus age 10 days

2) $p < 0,001$ versus age 30 days

Tableau 1 : Variation du poids des hémisphères cérébraux entre 5 et 180 jours postnatal.

La valeur la plus élevée est atteinte à 30 jours.

A 60 et 180 jours les différences ne sont pas significatives.

3. DESCRIPTION DES AIRES.

3.1. Nomenclature.

Nous avons choisi pour notre étude quantitative les quatre aires suivantes, en raison des fonctions relativement précises qu'elles recouvrent :

Aire	4 (KRIEG)	praeagr.	(ROSE)	Motrice
Aire	10 (KRIEG)	praeagr.	(ROSE)	Motrice
Aire	3 (KRIEG)	Par.	(ROSE)	Sensorielle réceptrice
Aire	17 (KRIEG)	Oc.	(ROSE)	Visuelle réceptrice

Ces aires ont été localisées d'après les atlas de ROSE (1929) pour la souris et de KRIEG (1946) pour le rat. Quelques modifications aux localisations de ROSE (1929) ont été apportées par KRIEG (1946) notamment pour le pôle frontal, et nous avons utilisé la terminologie de ce dernier pour notre travail. ROSE (1929) n'avait en effet pas reconnu l'aire 10 de KRIEG (1946) dans le pôle frontal comme une aire distincte et les aires 4 et 10 de KRIEG (1946) faisaient partie d'une seule grande région "praeagranularis". Récemment, de nouvelles modifications ont été apportées par CAVINESS (1975) chez la souris. Nous avons néanmoins conservé la nomenclature et la localisation de KRIEG (1946). L'étude quantitative a été faite à des niveaux assez précis, indiqués par la figure 2, chap. I, et toute correspondance avec une autre nomenclature peut être effectuée sur cette base.

3.2. Description à l'état adulte (30 - 60 - 180 jours).

3.2.1. Aire 4 (Fig. 9).

La région considérée par KRIEG (1946) comme l'aire 4 est une bande étroite (environs 400 microns au sommet), localisée entre l'aire 3 pariétale latéralement, et l'aire 6 médialement, du côté de la scissure interhémisphérique. Elle fait suite à l'aire 10 dans la direction rostrocaudale et en arrière d'elle, on trouve le groupe des aires visuelles 17 - 18 - 18a.

La distinction avec l'aire 10 qui est aussi une aire motrice frontale n'est pas facile; cependant, dans l'aire 4, les couches II - III - IV occupent une proportion plus grande, et les couches V et VI une proportion moins grande, de l'épaisseur totale; les pyramides de la couche V sont aussi légèrement plus grandes et mieux colorées dans l'aire 4.

La distinction entre les aires 4 et 3 par contre est facile. On trouve dans l'aire 3 une couche IV granulaire épaisse et dense tandis que la couche V est subdivisée en trois parties dont la médiane, plus dense, contient les grosses pyramides.

La distinction avec l'aire 6 est difficile car les structures sont très semblables. Pour éviter toute confusion, l'aire 4 a été comptée proche de sa limite latérale avec l'aire 3.

L'aire 4 a une couche I un peu plus épaisse que les aires adjacentes et comme dans tout le cortex, très bien délimitée. La couche II est dense, mince, et sa limite avec la couche III est peu nette, la seule différence étant la moindre densité en III. Les couches III et IV ont une densité analogue, mais les neurones de la couche IV sont plus petits. Dans les couches III et IV on trouve parfois un neurone isolé de plus grande taille (origine probable en V). La couche V est une couche épaisse avec des limites relativement floues du côté des couches IV et VI. Elle contient de grandes pyramides (qui ne sont jamais aussi grandes que les cellules de Betz des primates) et des pyramides plus petites. Ces deux types cellulaires ont souvent un dendrite apical reconnaissable, mais les dendrites de la base sont difficiles à voir sur des coupes colorées au Crésyl violet.

Nous avons subdivisé la couche VI, épaisse, en deux sous-couches : VIa a une densité plus élevée que VIb qui représente environ un tiers de la couche. ROSE (1929) a subdivisé cette couche en VIα et VIβ . La couche VIb est séparée de la substance blanche sous-jacente par deux à trois rangées de cellules tangentielles; ces dernières forment la couche VII pour ROSE (1929) et la couche VIb pour KRIEG (1946). Nous n'avons pas estimé que ces cellules tangentielles constituaient une couche particulière car elles représentent une structure que l'on trouve partout dans l'isocortex de la souris.

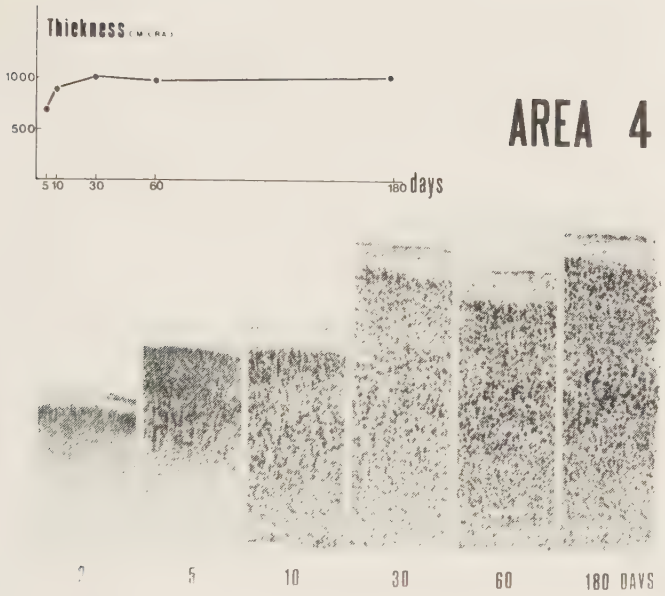


Figure 9 : Evolution de l'aire 4.

De gauche à droite : 2, 5, 10, 30, 60 et 180 jours.
Description : cf. texte.

Paraffine, 25 microns; Crésyl violet
Obj. : Zeiss planapochromat 4X/0.16
Ocul. : Proj. ultraphot II
Grossissement du négatif : 10 X
Grossissement final : 55 X

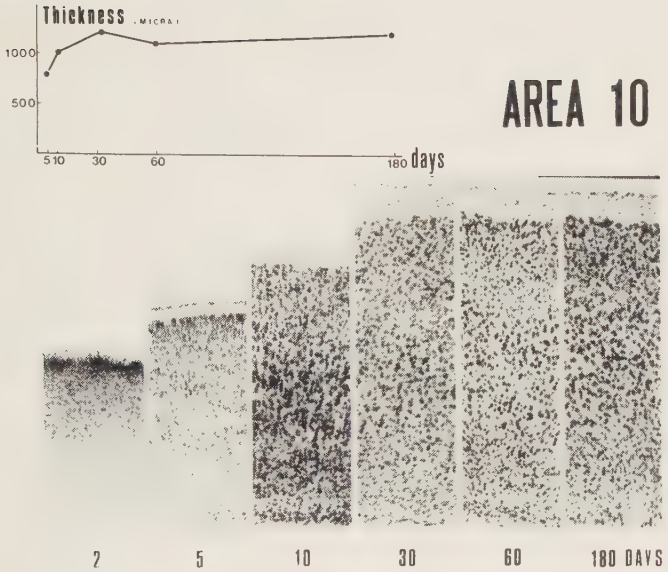
En haut : Epaisseur corticale totale dans l'aire 4.
Le maximum est atteint à 30 jours.

3.2.2. Aire 10 (Fig. 10).

L'aire 10 frontopolaire occupe entièrement l'aspect dorsal du pôle frontal, KRIEG (1946). Elle est limitée latéralement par l'aire 8, et médialement, du côté de la scissure interhémisphérique, en avant par l'aire limbique 24, et à partir de l'apparition du corps calleux et de la couche germinative des ventricules latéraux par l'aire 6. Au moment où elle prend fin dans la direction rostrocaudale, apparaissent les aires 4, 3, 2, KRIEG (1946).

On distingue clairement l'aire 10 des aires 8 et 24 par sa couche VIb bien définie et de densité inférieure à VIa. Ses deux voisines n'ont pas cette particularité. De plus l'aire 8 a une couche IV deux fois plus épaisse que l'aire 10, et l'aire 24 est un cortex cingulaire où les couches sont mal définies en-dessous de la couche II.

La distinction avec l'aire 4 en arrière est plus difficile car il s'agit également d'un cortex moteur à couche granulaire peu importante. Le cortex de l'aire 10 est toutefois plus épais dans son ensemble et moins dense; les couches I, II, III et IV y présentent une structure et une délimitation très semblables à celles de l'aire 4, avec une densité analogue pour les couches III et IV; cette dernière contient également des neurones de plus petite taille; les couches II, III et IV sont minces par rapport à l'épaisseur totale; en revanche, les couches V et VI sont très épaisses, plus que dans l'aire 4. Les grandes pyramides de la couche V sont un peu plus petites que dans l'aire 4. La couche VI est également subdivisée, VIb étant beaucoup moins dense que VIa et toujours séparée de la substance blanche par deux à trois rangées de cellules tangentielles (couche VII de ROSE (1929).



igure 10 : Evolution de l'aire 10.

De gauche à droite : 2, 5, 10, 30, 60 et 180 jours.
Description : cf. texte.

Paraffine, 25 microns; Crésyl violet
Obj. : Zeiss planapochromat 4X / 0.16
Ocul. : Proj. ultraphot II
Grossissement du négatif : 10 X
Grossissement final : 55 X

En haut : Epaisseur corticale totale dans l'aire 10.
Le maximum est atteint à 30 jours.

3.2.3. Aire 3 (Fig. 11).

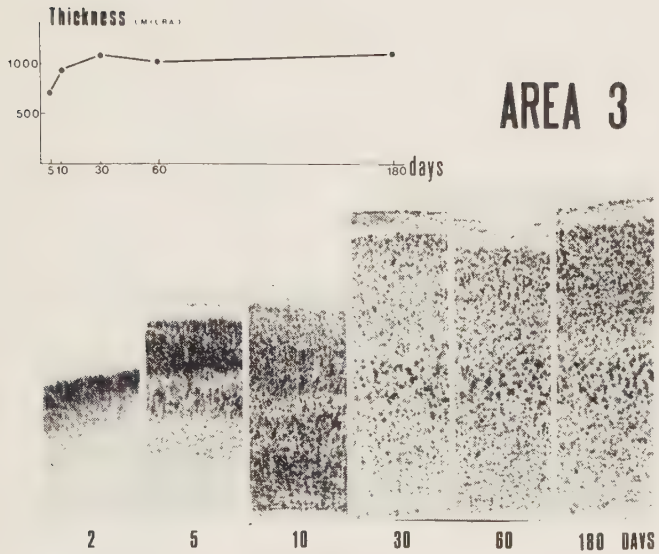
L'aire 3 est localisée entre l'aire 4 médialement et l'aire 2 latéralement. Elle se distingue facilement de l'aire 4 par une couche IV dense et épaisse et par une couche V clairement subdivisée. Dans l'aire 2, adjacente latéralement, la présence dans la couche IV des formations en tonneaux bien décrites par WOOLSEY et VAN DER LOOS (1970) et correspondant (sur des coupes frontales) à des colonnes de densité alternativement élevée et faible, permet de distinguer clairement les aires 3 et 2.

Dans l'aire 3, les couches I, II et III sont très semblables à ce que l'on observe dans l'aire 4. La couche IV est homogène, très dense, formée de petites cellules rondes. Sa densité est à la fois plus forte que celle de la couche III dans la même aire et que celle de la couche IV dans l'aire 4 adjacente médialement. La couche V est subdivisée en trois sous-couches, comme déjà décrit par ROSE (1929) et KRIEG (1946); la sous-couche médiane (où ont été effectués les comptages) contient d'assez grandes pyramides, tandis que les sous-couches supérieure et inférieure contiennent des neurones plus petits et arrangés de manière moins dense. La couche VI, comme dans les aires 4 et 10, est subdivisée en deux sous-couches VIa et VIb d'inégale densité et séparées de la substance blanche par des cellules tangentielles.

3.2.4. Aire 17 (Fig. 12).

L'aire 17 visuelle réceptrice est localisée entre l'aire 18 du côté de la scissure interhémisphérique et l'aire 18a latéralement, 18 et 18a étant des aires visuelles associatives, KRIEG (1946). Dans la direction rostrocaudale elle fait suite à l'aire 3, au moment où la corne d'Ammon est visible entièrement, et se poursuit, toujours bordée par les aires 18 et 18a, jusqu'à l'extrémité postérieure du cortex occipital.

Le cortex de la région visuelle est plus mince que dans les aires frontopariétales. L'aire 17 se distingue de l'aire 18 médialement, et de l'aire 18a latéralement, par sa couche IV granulaire, plus dense et plus épaisse que dans ses deux voisines.



igure 11 : Evolution de l'aire 3.

De gauche à droite : 2, 5, 10, 30, 60 et 180 jours.
Description : cf. texte.

Paraffine, 25 microns; Crésyl violet
Obj. : Zeiss planapochromat 4 X / 0.16
Ocul. : Proj. ultraphot II
Grossissement du négatif : 10 X
Grossissement final : 55 X

En haut : Epaisseur corticale totale dans l'aire 3.
Le maximum est atteint à 30 jours.

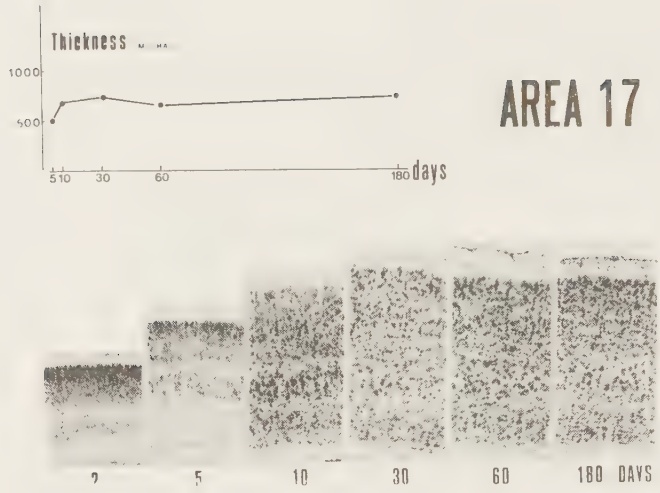


Figure 12 : Evolution de l'aire 17.

De gauche à droite : 2, 5, 10, 30, 60 et 180 jours.
Description : cf. texte.

Paraffine, 25 microns; Crésyl violet
Obj. : Zeiss planapochromat 4 X / 0.16
Ocul. : Proj. Ultraphot II
Grossissement du négatif : 10 X
Grossissement final : 55 X

En haut : Epaisseur corticale totale dans l'aire 17.
Le maximum est atteint à 30 jours.

Dans l'aire 18a les couches II à IV sont localisées plus près de la surface piale de même que dans l'aire 18, avec de plus une quasi-disparition de la couche IV et une population neuronale de plus petite taille.

Dans l'aire 17, la couche I est bien délimitée comme dans le reste de l'écorce. La couche II est mince et dense, mal délimitée du côté de la couche III qui se distingue cependant par une densité plus faible que celle de la couche II. La couche IV est épaisse, homogène et dense mais non subdivisée comme c'est le cas chez les primates; elle contient de petits neurones (grains) avec peu de cytoplasme.

Le groupe des couches II, III et IV égale en épaisseur celui des couches V et VI. La couche V n'est pas subdivisée et contient d'assez grands neurones de type pyramidal; au niveau de sa limite avec la couche VI, il y a cependant une bande cellulaire un peu plus clairsemée et plus ou moins visible selon l'animal. La couche VI n'est pas très épaisse et ne présente pas de sous-couche VIb moins dense; comme ailleurs, elle est clairement délimitée du côté de la substance blanche par des cellules tangentielles.

3.3. Description au cours du développement (Fig. 9-12).

A la naissance et jusqu'à 2 jours, le cortex cérébral de la souris est très immature, EAYRS et GOODHEAD (1959). Des différences entre les aires sont impossibles à observer et les six couches ne sont pas encore toutes mises en place de façon reconnaissable. La couche moléculaire est déjà bien visible, assez dense, avec présence d'une couche sous-piale importante composée de 3-4 rangées de cellules disposées horizontalement. On peut ensuite distinguer trois zones : couches II, III et IV sans limite nette entre elles, avec une densité augmentée à la limite de la couche I, dans une zone qui va correspondre à la future couche II; les cellules sont petites, sans cytoplasme, avec un noyau rond ou ovale et souvent encore une forme bipolaire; l'organisation est columnaire. La bande composant les couches II, III et IV est mince par rapport à celle des couches V et VI. La couche V est large, on la reconnait à la présence de cellules plus grosses, sans cytoplasme évident, mais avec

parfois un dendrite apical visible à son origine. Ces cellules sont mélangées avec des cellules plus petites à noyau arrondi et d'autres de forme bipolaire (neuroblastes). Dans la région correspondant à l'aire 17, on trouve sous la couche V d'abord une zone plus clairsemée contenant également des grosses cellules type pyramide et des plus petites, puis la couche VI, dont la densité diminue du côté de la substance blanche sans constituer pour autant une véritable sous-couche. Cette zone moins dense entre V et VI va s'amenuiser progressivement jusqu'à 10 jours, et à l'âge adulte, nous l'avons décrite comme existant de manière plus ou moins nette selon l'animal (3.2.4.). Dans les autres régions, la couche V n'est pas non plus homogène mais la couche VI paraît déjà subdivisée en deux avec VIb moins dense que VIa. Partout la limite avec la substance blanche est assurée par quelques rangées de neurones tangentiels assez grands. La substance blanche est très dense avec une bande de plus grande densité au centre; les cellules sont orientées dans tous les sens, on observe une couche germinative périventriculaire importante (50 microns d'épaisseur dans la région occipitale et 120 microns plus en avant). On trouve des mitoses dans toutes les couches et dans la substance blanche; les cellules gliales ne sont pas reconnaissables; les noyaux cellulaires contiennent de nombreux nucléoles.

A 5 jours, le "pattern" des couches est déjà beaucoup mieux délimité et les aires commencent à être reconnaissables par certains critères existant à l'âge adulte. Cependant, l'état de maturation varie beaucoup d'un cerveau à l'autre. Plus le cerveau est développé (volume cortical plus grand - densité moyenne des couches plus faible) meilleure est la stratification.

Dans la région visuelle l'aire 17 est reconnaissable, identifiable dans sa position antéro-postérieure grâce à des repères sous-corticaux (hippocampe) et se distinguant des aires 18 et 18a par un complexe des couches II, III et IV plus large. Dans les cerveaux bien développés la couche IV est déjà dense et épaisse, mais dans les cerveaux moins bien développés, la densité dans la zone des couches II et III est un peu plus grande

que dans la zone correspondant à la future couche IV. A 10 jours ce sera l'inverse et la couche IV sera alors nettement individualisée avec une densité plus forte que la couche III. La couche V contient toujours une bande inférieure de moindre densité, à la limite de la couche VI. Le groupe des couches II, III et IV est toujours mince par rapport à celui des couches V et VI.

Les aires 4 et 3 peuvent également être identifiées; l'aire 3 en particulier a déjà un "pattern" proche de l'adulte, couche IV épaisse et dense, couche V subdivisée en trois avec une bande médiane de plus forte densité contenant les grandes pyramides, et couche VI subdivisée en deux avec VIa plus dense et VIb moins dense. L'aire 4, adjacente médialement à 3, se distingue par sa couche IV moins dense et sa couche V non subdivisée; la couche VI est subdivisée comme dans l'aire 3. Dans l'aire 2 adjacente latéralement à 3, les colonnes de densité alternativement forte et faible dans la couche IV (tonneaux) commencent d'apparaître. Ce fait a été reconnu aussi par RICE (1974) et ce critère permet de distinguer les aires 2 et 3.

Quant à l'aire 10, elle est identifiable par sa position au niveau de la fin des fibres interhémisphériques du corps calleux et par sa stratification déjà assez nette : couche II très dense, couches III et IV de densité moins grande mais équivalente, couche V large et relativement homogène, couche VI bien subdivisée, cellules tangentielles à la limite de la substance blanche.

A 5 jours on n'observe pratiquement plus aucune mitose, mais parfois un gros neurone type pyramide de V dans les couches III et IV ou VI; souvent l'orientation de son dendrite apical indique que sa position est oblique ou renversée; cette orientation se trouve aussi parfois pour les neurones de V. Le dendrite apical des pyramides de V et aussi de II et III est presque toujours visible sur une courte distance; le cytoplasme chromophile est peu abondant, les noyaux plus petits qu'à 10 jours contiennent de 1 à 5 nucléoles dont l'un est généralement prédominant. Les cellules gliales sont présentes mais la confusion est parfois possible avec un noyau de petit neurone immature, surtout dans les couches II et IV. On trouve en effet

encore un assez grand nombre de noyaux ronds ou ovales, foncés, parfois bipolaires, probablement des neuroblastes. Nous avons appelé les cellules gliales à ce stade "glial-like cells" (fig. 5, chap. I).

La densité est partout plus faible qu'à la naissance et plus forte qu'à 10 jours. La substance blanche est encore très dense et surtout inhomogène; la couche subventriculaire persiste, mesurant de 50 à 100 microns suivant les endroits.

A 10 jours, les quatre aires sont tout à fait reconnaissables et leur cytoarchitecture est pratiquement aussi bien établie qu'à l'âge adulte, avec lequel il ne subsiste que des différences minimes. En particulier, la densité est encore plus élevée dans toutes les couches et, alors que les couches V et VI ont atteint leur épaisseur adulte, les couches II, III et IV sont encore minces. Les grosses pyramides de la couche V ont une quantité de cytoplasme un peu moins grande que 20 jours plus tard. Les dendrites apicaux sont moins bien visibles qu'à 5 jours et les noyaux ont en moyenne 3 nucléoles et un diamètre quasi adulte. Les cellules tangentielles à la limite de la couche VI et de la substance blanche ne forment plus que 1-2 rangées et la couche germinative subventriculaire a atteint son stade adulte (50-60 microns environ); cette dernière persistera tout au long de l'existence de l'animal comme réservoir potentiel de cellules gliales, SMART et LEBLOND (1961), PRIVAT et LEBLOND (1972).

Les cellules gliales sont facilement identifiables dans le cortex et dans la substance blanche, où l'on note également la présence d'un certain nombre de neurones, persistant à l'âge adulte (fig. 13).

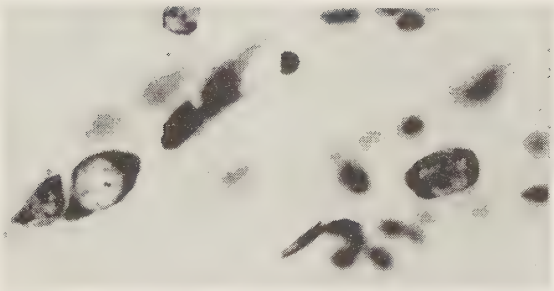


Figure 13 : Neurones dans la substance blanche sous l'aire 10.
A gauche 10 jours; à droite 60 jours.

Paraffine, 25 microns; Crésyl violet
Obj. : Zeiss planapochromat 100 X / 1.3, immersion
Ocul. : Proj. ultraphot II
Grossissement du négatif : 1000 X
Grossissement final : 2000 X

4. CYTOARCHITECTONIE QUANTITATIVE.

4.1. Diamètre nucléaire.

Dans ce travail, nous avons utilisé le critère du diamètre nucléaire principalement pour la correction des densités cellulaires selon la formule d'ABERCROMBIE (1946) (chap. I, 4.2.3.). Les mesures ont été faites sur 100 noyaux à chaque âge, dans la direction transverse à la surface piale, mais la précision de la méthode (plus petite graduation du micromètre oculaire = 0,75 microns) ne nous permet pas d'en user pour une appréciation très fine de la maturation des noyaux de neurones et de cellules gliales.* Les chiffres obtenus (sur lesquels aucun test statistique n'a été effectué pour les raisons ci-dessus) nous indiquent cependant quelques tendances du développement. Nous donnons dans le tableau annexé les moyennes avec les extrêmes. (Tab. 2).

Entre 5 et 10 jours, nous observons une augmentation du diamètre nucléaire neuronal qui passe de 7,5-8 à 9-9,5 microns environ. Les valeurs sont un peu plus faibles pour les petits neurones de la couche IV et plus fortes pour les gros neurones de la couche V. Les neurones des couches I, II, III et VI ont un diamètre sensiblement équivalent.

Entre 10 et 30 jours, il y a encore dans toutes les couches une faible augmentation du diamètre nucléaire (environ 0,5 microns), puis stabilisation à partir de 30 jours.

Le phénomène est similaire dans les quatre aires étudiées ou du moins pas suffisamment différent pour être apprécié valablement par notre méthode.

Les cellules gliales (astrocytes, oligodendrocytes, microgliocytes) ont un diamètre qui change peu au cours du développement, moyenne 4,5 microns, variant entre 3,5 et 6 microns.

La mesure de la surface du noyau et de la cellule entière est un indice plus précis de leur maturation (travail en cours).

ableau 2 : Evolution du diamètre nucléaire neuronal (en microns) à 5, 10, 30, 60 et 180 jours dans les couches des aires 10, 4, 3 et 17.

Moyennes sur 10 neurones par animal et sur 10 animaux par âge (total : 100 noyaux à chaque âge).
Extrêmes entre parenthèses.

NUCL. DIAMETER (micra) LAYERS	AREAS	5 DAYS	10 DAYS	30 DAYS	60 DAYS	180 DAYS
I-II-III	10	7,7 (6,8 - 8,4)	9,8 (9,0 -10,5)	10,3 (9,6 -10,5)	10,1 (9,4 -10,5)	10,2 (9,8 -10,4)
	4	7,9 (6,3 - 8,5)	9,7 (9,0 -10,5)	10,4 (9,5 -11,0)	10,3 (9,0 -10,8)	10,4 (9,3 -11,2)
	3	8,0 (7,0 - 8,5)	9,4 (8,5 -10,0)	10,2 (9,0 -10,8)	9,9 (8,5 -10,6)	10,1 (9,1 -10,5)
	17	7,6 (6,8 - 8,3)	9,2 (8,3 - 9,8)	9,8 (8,7 -10,4)	9,8 (8,8 -10,5)	9,7 (9,0 -10,4)
IV	10	7,7 (6,8 - 8,4)	8,5 (8,3 - 9,4)	9,1 (7,9 - 9,6)	9,0 (7,9 - 9,5)	9,2 (8,8 - 9,5)
	4	7,3 (6,1 - 7,8)	8,6 (7,8 - 8,9)	8,7 (7,7 - 9,3)	8,6 (7,9 - 9,1)	9,0 (7,9 - 9,4)
	3	7,2 (6,3 - 7,8)	8,9 (7,5 - 9,3)	8,5 (7,5 - 9,3)	8,3 (7,6 - 8,9)	8,4 (7,7 - 9,0)
	17	7,6 (6,8 - 8,3)	8,4 (7,5 - 9,2)	8,9 (7,7 - 9,5)	8,6 (7,9 - 9,5)	8,9 (7,8 - 9,4)
V (large neur.)	10	11,0 (10,1 -11,5)	12,9 (11,5 -13,4)	13,1 (12,4 -13,5)	12,5 (10,7 -13,2)	12,6 (10,9 -13,3)
	4	10,3 (9,3 -11,4)	12,5 (11,3 -13,7)	13,3 (12,3 -14,5)	13,3 (11,3 -13,6)	13,2 (12,0 -13,6)
	3	10,2 (9,3 -10,8)	12,5 (10,5 -13,2)	13,1 (11,3 -13,9)	12,9 (10,9 -14,0)	13,0 (10,9 -13,7)
	17	10,3 (9,3 -11,1)	11,7 (10,5 -12,5)	12,4 (11,3 -13,1)	12,1 (10,8 -12,9)	12,4 (11,7 -13,0)
V (small neur.)	10	-	9,8 (9,0 -10,5)	10,3 (9,6 -10,5)	10,1 (9,4 -10,5)	10,2 (9,8 -10,4)
	4		9,7 (9,0 -10,5)	10,4 (9,5 -11,0)	10,3 (9,0 -10,8)	10,4 (9,3 -11,2)
	3		9,4 (8,5 -10,0)	10,2 (9,0 -10,8)	9,9 (8,5 -10,6)	10,1 (9,1 -10,5)
	17		9,2 (8,3 - 9,8)	9,8 (8,7 -10,4)	9,8 (8,8 -10,5)	9,7 (9,0 -10,4)
VI	10	8,1 (7,4 - 8,8)	9,9 (9,0 -10,6)	10,2 (9,6 -10,4)	9,8 (9,1 -10,3)	10,0 (9,3 -10,4)
	4	,1 (6,5 - 8,5)	9,5 (9,1 - 9,9)	10,1 (8,9 -10,4)	9,8 (8,7 -10,3)	9,9 (8,8 -10,6)
	3	,0 (7,1 - 8,7)	9,3 (8,3 - 9,8)	9,7 (8,9 -10,5)	9,7 (8,7 -10,4)	9,7 (9,0 -10,3)
	17	,0 (7,0 - 8,5)	9,6 (8,5 -10,3)	9,8 (8,8 -10,3)	9,7 (8,7 -10,3)	9,6 (8,9 -10,3)

4.2. Densité cellulaire.

Rappelons d'abord que notre étude commence à 5 jours postnatal à cause de la grande immaturité du cortex cérébral à la naissance et de la difficulté à établir des chiffres de population cellulaire avant cet âge (chap. I, 4.2.5.). Elle porte donc sur le développement plutôt tardif de l'écorce si l'on considère que la mise en place des couches commence à 13-14 jours embryonnaires chez la souris (ou le rat), ANGEVINE et SIDMAN (1961), BERRY et ROGERS (1965), BISCONTE et MARTI (1975). Rappelons aussi qu'en termes de cytoarchitectonie quantitative le développement est apprécié par les variations du nombre des neurones par unité de volume, ou encore par la pente de la droite représentant le phénomène. Nous savons que d'une manière générale la densité neuronale décroît dans l'écorce cérébrale au cours du développement, en rapport avec la croissance du neuropile, et que cela peut être considéré comme un critère de maturation, HADDARA (1956), BRIZZEE et JACOBS (1959), RABINOWICZ (1964). Chez la souris, nous ne savons pas exactement dans quelles proportions et jusqu'à quel moment se poursuit le processus, ni quelle est l'évolution dans chaque couche.

4.2.1. Variation de la densité neuronale au cours du développement. (tab. 3-6; tab. 7).

Les chiffres de densité neuronale dans chaque couche et à chaque âge (5, 10, 30, 60 et 180 jours) fournissent des normes de population cellulaire aux âges étudiés (tab. 3-6), tandis que la variation de la densité neuronale à l'intérieur d'une couche au cours du développement permet d'apprécier sa maturation. Ce dernier phénomène est plus évident sur un graphique qui permet aussi mieux la comparaison entre les aires 4, 10, 3 et 17 (fig. 14).

De manière générale le processus de maturation est très important et similaire dans les quatre régions étudiées, à partir de 5 jours et jusqu'à 30 jours; en effet, les aires motrices (10 et 4), sensorielle (3), et visuelle réceptrice (17) présentent toutes une très grande diminution de la densité neuronale

dans toutes les couches; les différences sont hautement significatives ($p < 0.001$) aussi bien entre 5 et 10 jours qu'entre 10 et 30 jours. A partir de 30 jours, nous assistons à une relative stabilisation du phénomène : entre 30 et 60 jours, comme entre 60 et 180 jours, seules quelques différences significatives persistent sans que l'on puisse dégager une tendance particulière pour une aire ou une couche (tab. 7).

Si nous analysons maintenant la maturation des différentes couches, nous constatons que, pour les quatre aires étudiées, elles évoluent par groupe.

Entre 5 et 10 jours, les couches I et V présentent une diminution du nombre de neurones par unité de volume assez faible, les couches II, III et IV une diminution assez forte, la couche II ayant la plus forte; la couche VI manifeste une diminution intermédiaire mais plus proche de celle des couches I et V. Dans les aires 3, 4 et 10, où l'on trouve une couche VIb, cette dernière a toujours une diminution de densité neuronale plus faible que la couche VIa. On observe donc une pente faible pour les couches I, V, VIb, intermédiaire pour la couche VIa, forte pour les couches III et IV, très forte pour la couche II.

Entre 10 et 30 jours, nous retrouvons le même schéma d'évolution pour les groupes des couches I, V, VIa et VIb d'une part et II, III et IV d'autre part. La diminution de la densité cellulaire est beaucoup plus faible pour toutes les couches qu'entre 5 et 10 jours, mais toujours plus grande pour les couches II, III et IV que pour les couches I, V, VIb et VIa, ce qui se traduit dans les pentes reproduisant le phénomène. La couche II n'a plus la plus forte diminution de densité cellulaire et sa pente est souvent semblable à celle des couches III et IV.

A partir de 30 jours, toutes les couches se comportent de manière analogue. Nous observons souvent à 60 et 180 jours, une densité neuronale un peu plus grande qu'à 30 jours, mais ce fait n'est spécifique ni pour une aire ni pour une couche; nous verrons plus loin (5., 6., 10.2.) qu'il peut être mis en

relation avec les variations d'épaisseur et de volume corticaux.

En résumé : La maturation cytoarchitectonique quantitative des aires 4, 10, 3 et 17 se poursuit jusqu'à 30 jours avec un pic entre 5 et 10 jours (5 jours représentant la limite expérimentale fixée). Les couches I, V et VI d'une part et II, III et IV d'autre part, évoluent de manière relativement similaire dans ces quatre aires, avec une diminution de densité neuronale plus grande pour les couches II, III et IV, surtout entre 5 et 10 jours. A partir de 30 jours, il n'y a plus de différence quantitative importante dans la densité neuronale de l'écorce et une certaine forme de maturité peut être considérée comme atteinte (cf. discussion, 10.4.).

4.2.2. Variation de la densité gliale au cours du développement. (tab. 3-6; tab. 7).

Rappelons d'abord que, sur notre matériel (coupes de 25 microns - coloration Crésyl violet), nous n'avons pas fait de distinction entre astrocytes, oligodendrocytes et microgliocytes (chap. I, 4.6.).

De manière générale, le nombre de cellules gliales par unité de volume semble relativement stable au cours du développement dans chaque couche, quelle que soit l'aire (tabl. 3-6, tab. 7). En revanche, quel que soit l'âge, nous observons un gradient de densité gliale de l'extérieur du cortex vers l'intérieur, c'est-à-dire de la couche II à la couche VIb, couche I exceptée et cela dans toutes les aires. La couche VIb en particulier, lorsqu'elle est présente, contient une plus forte densité gliale.

A 5 jours, la densité gliale est plus élevée qu'à 10 jours, ($p < 0,001$), mais à cet âge nous ne sommes pas absolument certaine qu'il s'agisse de cellules gliales; nous les avons appelées cellules "glial-like" (chap. I, 4.6.).

A partir de 10 jours, nous n'observons pas de différences importantes du nombre de cellules gliales par unité de volume,

NUMBERS OF NEURONS AND GLIAL CELLS IN 0,00025 mm^3.

AREA 10		5 DAYS		10 DAYS		30 DAYS		60 DAYS		180 DAYS	
		$\bar{X}$	SEM	$\bar{X}$	SEM	$\bar{X}$	SEM	$\bar{X}$	SEM	$\bar{X}$	SEM
I	NEURONS	14,2	0,6	7,5	0,9	5,7	0,3	5,2	0,3	6,8	0,3
	GLIA	39,7	3,4	16,5	1,2	11,3	0,4	10,5	0,3	10,4	0,5
II	NEURONS	396,3	32,0	92,5	9,6	45,5	1,1	49,9	1,5	50,9	2,1
	GLIA	--	--	7,7	0,4	6,5	0,2	6,2	0,3	5,7	0,3
III	NEURONS	254,9	19,3	71,8	5,9	35,2	0,9	37,4	1,8	39,7	2,0
	GLIA	11,2	0,3	7,8	0,4	7,0	0,5	6,9	0,3	7,0	0,4
IV	NEURONS	253,1	17,3	77,8	7,6	37,1	1,2	38,8	1,6	42,1	2,4
	GLIA	11,4	0,2	8,6	0,4	7,3	0,5	7,7	0,4	9,2	0,5
V	NEURONS	80,0	3,0	38,4	1,4	24,1	1,0	23,9	0,2	23,3	1,4
	GLIA	11,5	0,3	8,1	0,4	8,0	0,4	7,8	0,4	10,3	0,5
VIa	NEURONS	141,0	6,9	68,5	2,2	39,9	1,0	43,2	1,0	40,4	2,4
	GLIA	10,6	0,1	8,7	0,4	9,2	0,4	10,5	0,4	12,5	0,8
VIb	NEURONS	74,6	4,4	53,2	0,9	24,3	1,4	25,9	0,6	27,5	0,9
	GLIA	11,0	0,3	11,2	0,2	13,5	0,5	13,6	0,3	13,6	0,2
W.M.	NEURONS	--	--	4,2	0,5	1,1	0,2	0,6	0,1	0,3	0,1
	GLIA	57,1	3,7	50,7	3,4	48,6	1,7	53,3	1,7	52,8	1,4

NUMBERS OF NEURONS AND GLIAL CELLS IN 0,00025 mm^3.

AREA 4		5 DAYS		10 DAYS		30 DAYS		60 DAYS		180 DAYS	
		$\bar{X}$	SEM	$\bar{X}$	SEM	$\bar{X}$	SEM	$\bar{X}$	SEM	$\bar{X}$	SEM
I	NEURONS	12,0	0,5	8,0	0,9	6,8	0,3	6,1	0,3	6,4	0,3
	GLIA	41,8	2,8	16,2	1,1	11,0	0,3	10,8	0,4	11,2	0,3
II	NEURONS	453,3	27,7	95,4	5,0	53,9	1,2	61,2	1,2	58,1	1,6
	GLIA	--	--	7,8	0,3	7,0	0,2	7,2	0,2	7,4	0,3
III	NEURONS	282,1	17,4	77,9	4,5	43,9	0,9	46,6	1,2	49,2	1,7
	GLIA	12,0	0,4	8,4	0,3	7,3	0,3	7,4	0,3	7,0	0,2
IV	NEURONS	284,2	14,4	82,2	5,0	44,6	0,5	49,5	1,2	53,2	1,9
	GLIA	11,6	0,2	8,8	0,2	7,6	0,4	8,1	0,4	8,9	0,6
V	NEURONS	88,0	2,7	41,2	1,9	27,2	0,3	28,3	0,4	28,1	0,8
	GLIA	11,0	0,2	8,7	0,3	8,0	0,3	8,6	0,2	9,7	0,4
VIa	NEURONS	161,9	6,0	79,7	2,4	48,8	1,1	53,6	1,0	50,9	2,2
	GLIA	10,6	0,3	8,8	0,3	8,9	0,3	9,7	0,4	12,0	0,6
VIb	NEURONS	87,4	6,0	64,3	1,9	37,6	1,1	42,0	1,3	40,8	0,8
	GLIA	11,0	0,4	11,8	0,1	12,7	0,1	13,2	0,2	13,4	0,1
W.M.	NEURONS	--	--	4,5	0,6	0,9	0,2	0,9	0,1	0,5	0,1
	GLIA	79,2	6,2	55,5	4,2	45,5	0,8	50,1	1,3	45,9	0,6

NUMBERS OF NEURONS AND GLIAL CELLS IN 0,00025 mm^3.

AREA 3		5 DAYS		10 DAYS		30 DAYS		60 DAYS		180 DAYS	
		$\bar{X}$	SEM	$\bar{X}$	SEM	$\bar{X}$	SEM	$\bar{X}$	SEM	$\bar{X}$	SEM
I	NEURONS	12,6	0,5	8,8	0,6	7,3	0,2	6,6	0,2	7,3	0,2
	GLIA	42,2	3,1	17,0	0,7	10,5	0,4	10,3	0,3	11,3	0,3
II	NEURONS	459,2	28,7	97,6	5,1	52,5	0,9	61,7	1,1	58,5	1,5
	GLIA	--	--	8,0	0,3	7,0	0,2	7,0	0,1	6,9	0,2
III	NEURONS	294,7	18,8	81,4	4,2	42,2	0,9	48,4	1,0	49,6	1,5
	GLIA	12,1	0,6	8,2	0,3	7,2	0,3	7,1	0,3	7,2	0,1
IV	NEURONS	342,2	13,4	105,0	4,7	66,3	1,5	69,7	0,9	72,9	2,8
	GLIA	11,4	0,6	8,2	0,3	8,0	0,4	8,0	0,2	9,0	0,5
V	NEURONS	86,8	2,8	42,4	1,9	26,8	0,3	29,1	0,7	27,3	1,0
	GLIA	11,1	0,6	8,4	0,3	9,0	0,5	8,8	0,3	10,4	0,5
VIa	NEURONS	168,9	7,2	79,2	2,2	48,5	1,0	53,3	1,0	51,3	1,6
	GLIA	10,5	0,8	8,8	0,2	8,9	0,4	9,4	0,3	12,1	0,6
VIb	NEURONS	91,2	5,9	63,7	2,2	37,2	1,4	40,7	1,4	38,0	0,9
	GLIA	10,8	0,8	11,5	0,2	13,0	0,2	13,2	0,2	13,4	0,3
W.M.	NEURONS	--	--	5,6	0,7	0,9	0,1	0,7	0,1	0,4	0,1
	GLIA	76,3	9,0	50,4	5,0	45,5	1,2	48,8	0,8	46,9	0,8

NUMBERS OF NEURONS AND GLIAL CELLS IN 0,00025 mm^3.

AREA 17		5 DAYS		10 DAYS		30 DAYS		60 DAYS		180 DAYS	
		$\bar{X}$	SEM	$\bar{X}$	SEM	$\bar{X}$	SEM	$\bar{X}$	SEM	$\bar{X}$	SEM
I	NEURONS	12,7	0,9	7,3	0,6	7,5	0,4	6,2	0,3	6,9	0,2
	GLIA	40,9	5,7	16,0	1,2	13,5	0,7	13,4	0,5	12,2	0,4
II	NEURONS	498,1	33,1	117,3	9,1	67,3	2,5	68,3	1,5	71,0	2,5
	GLIA	--	--	7,4	0,3	6,9	0,2	7,5	0,2	6,4	0,4
III	NEURONS	318,9	13,4	101,7	6,8	51,4	1,5	52,8	1,4	56,8	1,9
	GLIA	14,3	1,0	8,3	0,4	7,2	0,2	7,2	0,2	7,4	0,4
IV	NEURONS	335,9	12,8	119,5	7,8	62,4	1,9	66,8	1,4	69,6	2,0
	GLIA	12,8	0,6	9,2	0,5	7,6	0,3	8,1	0,4	9,6	0,5
V	NEURONS	111,2	6,4	47,6	3,0	31,7	0,9	32,3	0,3	31,0	1,3
	GLIA	12,9	0,6	8,7	0,4	7,9	0,3	9,0	0,3	10,3	0,6
VIa	NEURONS	180,7	6,8	86,9	3,2	57,8	2,1	61,9	1,3	59,6	2,6
	GLIA	11,0	0,7	9,7	0,4	9,9	0,3	10,7	0,3	11,2	0,7
VIb	NEURONS	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
	GLIA	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
W.M.	NEURONS	--	--	2,9	0,2	1,1	0,2	1,3	0,2	0,4	0,1
	GLIA	78,1	9,2	51,3	3,2	48,7	1,8	49,6	1,4	47,2	1,0

Tableau 7 : Résultats des tests de Student pour les variations des densités neuronales et gliales entre les différents âges étudiés.

XXX	$p < 0,001$	
XX	$p < 0,01$	Densités neuronales
X	$p < 0,05$	
000	$p < 0,001$	
00	$p < 0,01$	Densités gliales
0	$p < 0,05$	
n.s.	non significatif	

Entre deux âges croissant, 5 et 10 jours, 10 et 30 jours, etc. les différences sont décroissantes sauf si l'inverse ($<$) est indiqué.

"t" TESTS FOR THE NEURONAL AND GLIAL DENSITIES

	LAYERS	5 - 10 DAYS N	5 - 10 DAYS G	10 - 30 DAYS N	10 - 30 DAYS G	30 - 60 DAYS N	30 - 60 DAYS G	60 - 180 DAYS N	60 - 180 DAYS G
AREA 17	I	xxx	ooo	n.s.	n.s.	x	n.s.	x	n.s.
	II	xxx	-	xxx	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	III	xxx	ooo	xxx	o	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	IV	xxx	ooo	xxx	oo	n.s.	n.s.	n.s.	o ∧
	V	xxx	ooo	xxx	n.s.	n.s.	o ∧	n.s.	n.s.
	VIa	xxx	o	xxx	s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	White mat.	x	-	xxx	n.s.	n.s.	n.s.	xx	n.s.
AREA 3	I	xx	ooo	x	ooo	n.s.	n.s.	x ∧	o
	II	xxx	-	xxx	o	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	III	xxx	ooo	xxx	o	xxx ∧	n.s.	n.s.	n.s.
	IV	xxx	ooo	xxx	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	V	xxx	ooo	xxx	n.s.	xx ∧	n.s.	n.s.	o ∧
	VIa	xxx	o	xxx	n.s.	xx ∧	n.s.	n.s.	ooo ∧
	VIb	xxx	n.s.	xxx	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	White mat.	n.s.	-	xxx	o ∧	n.s.	n.s.	x	n.s.
AREA 4	I	xxx	ooo	n.s.	ooo	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	II	xxx	-	x	o	xxx ∧	n.s.	n.s.	n.s.
	III	xxx	ooo	xxx	o	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	IV	xxx	ooo	xxx	oo	xx ∧	n.s.	n.s.	n.s.
	V	xxx	ooo	xxx	n.s.	x ∧	n.s.	n.s.	o ∧
	VIa	xxx	oo	xxx	n.s.	xx ∧	n.s.	n.s.	oo ∧
	VIb	xx	n.s.	xxx	oo	x ∧	oo	n.s.	n.s.
	White mat.	x	-	xxx	o	n.s.	o ∧	x	oo
AREA 10	I	xxx	ooo	n.s.	ooo	n.s.	n.s.	xxx	n.s.
	II	xxx	-	xxx	n.s.	x ∧	n.s.	n.s.	n.s.
	III	xxx	ooo	xxx	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	IV	xxx	ooo	xxx	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	o ∧
	V	xxx	ooo	xxx	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	ooo ∧
	VIa	xxx	ooo	xxx	n.s.	x ∧	o ∧	n.s.	o ∧
	VIb	xxx	n.s.	xxx	ooo	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	White mat.	n.s.	-	xxx	n.s.	x	n.s.	x	n.s.

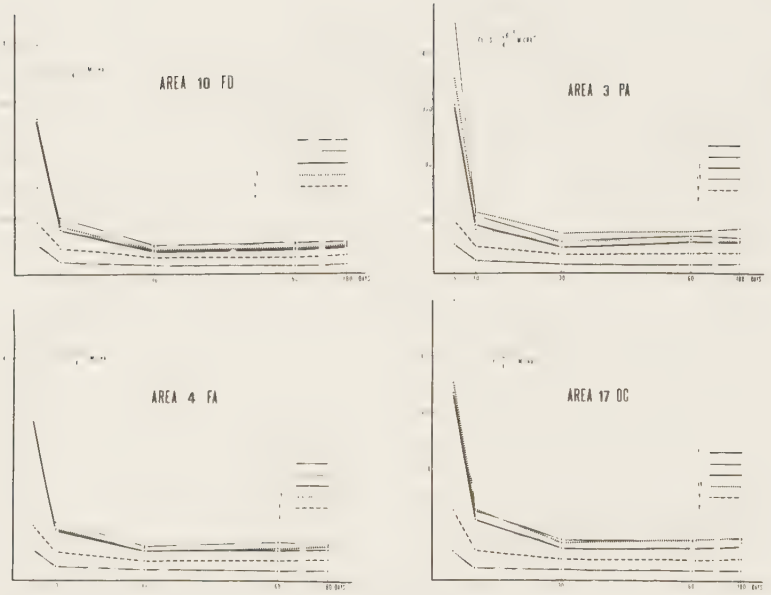


Figure 14 : Variation de la densité cellulaire dans les six couches des aires 4, 10, 3 et 17, à 5, 10, 30, 60 et 180 jours.

Les graphiques sont établis pour la densité cellulaire et non neuronale, mais ce facteur ne modifie pas l'allure des courbes puisque la densité gliale varie peu au cours du développement. Les erreurs ne sont pas indiquées à cause de la superposition des courbes, mais on peut se reporter au tableau 7 pour les tests de significativité.

On remarque entre 5 et 10 jours deux groupes de courbes représentant la diminution de densité cellulaire : le groupe des couches I, V et VI présente une diminution plus forte que le groupe des couches II, III et IV.
Entre 10 et 30 jours, le phénomène est similaire mais moins accentué. Après 30 jours, les différences ne sont plus importantes.

5. MESURE DE L'EPAISSEUR DES COUCHES.

Rappelons que l'épaisseur corticale a été mesurée sur des coupes frontales non absolument perpendiculaires à la surface piale et que cela permet seulement la comparaison d'une aire d'un stade de développement à l'autre ou la comparaison d'aires adjacentes sur le même plan frontal (chap. I, fig. 6).

Comme les mesures doivent être appréciées en tenant compte du fait ci-dessus, nous ne leur avons pas appliqué de test statistique et nous avons estimé que la moyenne des valeurs et les extrêmes étaient plus représentatifs (tab. 8).

5.1. Variation à l'état adulte (30-60-180 jours) (tab. 8).

Dans l'aire 10 les couches supragranulaires II, III et IV (∿ 310 microns) sont moins importantes que les couches infragranulaires V et VI (∿ 750 microns). Il en va de même pour l'aire 4 (∿ 340 microns et ∿610 microns). Dans l'aire 3, la différence est un peu moins importante car les couches supragranulaires sont un peu plus épaisses (∿ 410 microns) et les couches infra-granulaires ont la même épaisseur que dans l'aire 4 (∿ 610 microns).

L'aire 17 a en revanche des couches infragranulaires V et VI équivalentes en épaisseur (∿ 310 microns) aux couches supragranulaires II, III et IV (∿ 300 microns).

5.2. Variation au cours du développement (tab. 8) (+ fig. 9-12).

Entre 5 et 10 jours il y a une augmentation d'épaisseur dans toutes les couches et dans toutes les aires, exception faite de la couche VI dans l'aire 17 qui diminue légèrement.

Entre 10 et 30 jours l'augmentation se poursuit, encore assez forte pour les couches II, III et IV, beaucoup moins pour les couches I, V et VI; l'épaisseur de la couche VI dans l'aire 17 continue de décroître faiblement.

D'une manière générale la variation de l'épaisseur totale (fig. 9-12) suit celle des couches II, III et IV qui est la plus importante dans le développement postnatal à partir de 5 jours (tab. 8), et à 30 jours l'épaisseur est maximale dans toutes les aires.

La maturité des aires 4, 10, 3 et 17, sur le plan de l'épaisseur corticale totale et de l'épaisseur des couches, est donc atteinte à 30 jours. Nous nous souvenons que la maturité cytoarchitectonique quantitative est également atteinte à 30 jours (4.2.1.) et que, de même que l'augmentation d'épaisseur jusqu'à 30 jours est la plus forte pour les couches II, III et IV, la diminution de densité neuronale est la plus importante pour les mêmes couches entre 5 et 10 jours, puis entre 10 et 30 jours (4.2.1.). Nous pouvons constater ainsi que les variations d'épaisseur corticale et de densité cellulaire sont certainement corrélées au cours du développement. Nous verrons cependant plus loin que d'autres paramètres interviennent dans cette relation (9.).

Entre 30 et 60 jours, on assiste à une diminution de l'épaisseur corticale totale et de celle de la plupart des couches. A 180 jours les valeurs sont à nouveau un peu plus élevées qu'à 60 jours mais inférieures toutefois à celles de 30 jours. A nouveau il y a ici corrélation avec les variations de la densité neuronale, puisque cette dernière est un peu plus élevée à 60 et à 180 jours qu'à 30 jours (4.2.1.). Ce phénomène sera évoqué plus en détail sous 9. et 10.2.

5.3. Pourcentage de l'épaisseur totale (tab. 9).

La mesure de l'épaisseur des couches dans chaque aire nous renseigne sur son évolution au cours du développement. Cela ne nous fournit en revanche aucune information sur l'importance relative des couches, les unes par rapport aux autres, à chaque stade du développement. C'est pourquoi nous avons rapporté, à chaque âge et pour chaque aire, l'épaisseur de chaque couche à l'épaisseur corticale totale (tab. 9). Cela a en outre l'avantage de nous permettre la comparaison de toutes les couches

bleau 8 : Evolution de l'épaisseur (en microns) du cortex total et des couches I à VI, à 5, 10, 30, 60 et 180 jours, dans les aires 10, 4, 3 et 17.

Moyennes obtenues sur 10 animaux à chaque âge et à 10 points différents de l'aire.
Extrêmes entre parenthèses.

THICKNESS (micra)		5 DAYS	10 DAYS	30 DAYS	60 DAYS	180 DAYS
[illegible]	TRIALS					
I	10	36 (29 - 39)	72 (50 - 86)	100 (78 - 116)	94 (82 - 107)	98 (81 - 117)
	4	36 (30 - 42)	68 (55 - 76)	96 (78 - 106)	88 (78 - 94)	96 (81 - 113)
	3	35 (29 - 43)	67 (54 - 77)	93 (70 - 103)	86 (75 - 94)	91 (82 - 108)
	17	42 (20 - 61)	63 (46 - 72)	90 (71 - 101)	76 (65 - 91)	80 (68 - 94)
II-IV	10	207 (177 - 252)	303 (215 - 384)	374 (310 - 405)	323 (298 - 417)	336 (314 - 366)
	4	166 (130 - 186)	282 (217 - 332)	340 (304 - 384)	311 (274 - 375)	306 (288 - 322)
	3	212 (157 - 236)	336 (276 - 395)	411 (357 - 471)	398 (347 - 433)	416 (393 - 428)
	17	161 (123 - 189)	262 (207 - 298)	314 (238 - 374)	280 (262 - 299)	310 (280 - 350)
V	10	281 (267 - 317)	365 (316 - 434)	429 (316 - 474)	420 (378 - 472)	438 (386 - 487)
	4	238 (204 - 281)	278 (257 - 319)	301 (252 - 322)	293 (260 - 319)	308 (279 - 329)
	3	213 (183 - 257)	263 (229 - 285)	299 (272 - 329)	265 (236 - 295)	294 (260 - 313)
	17	123 (111 - 131)	182 (152 - 214)	186 (165 - 202)	168 (151 - 198)	188 (175 - 202)
VI	10	271 (227 - 319)	289 (238 - 338)	324 (277 - 344)	314 (291 - 345)	323 (295 - 366)
	4	276 (223 - 322)	286 (214 - 391)	303 (251 - 347)	295 (260 - 431)	330 (310 - 357)
	3	260 (197 - 321)	280 (211 - 363)	293 (249 - 322)	295 (260 - 347)	297 (267 - 344)
	17	183 (145 - 201)	164 (146 - 180)	143 (123 - 157)	122 (105 - 144)	152 (121 - 164)
Total	10	795 (746 - 862)	1029(836 -1187)	1227 (981 -1300)	1151 (1042 -1300)	1195 (1115 -1272)
	4	716 (619 - 811)	914 (810 -1073)	1040 (913 -1123)	987 (872 -1115)	1040 (1006 -1100)
	3	720 (565 - 796)	946 (808 -1101)	1096 (972 -1187)	1044 (924 -1092)	1098 (1060 -1133)
	17	509 (456 - 546)	671 (585 - 754)	733 (641 - 806)	646 (594 - 693)	730 (692 - 787)

dans toutes les aires, puisqu'il s'agit d'un pourcentage qui ne dépend plus des variations de la convexité cérébrale.

Couche I : Les aires 4, 3 et 10 ont une couche I moins importante par rapport à l'épaisseur totale (5-9%) que l'aire 17 (8-12%). L'augmentation est faible jusqu'à 30 jours pour toutes les aires.

Couche II , III et IV (supragranulaires) : Dans les aires 17 et 3, une plus grande partie du cortex est occupée par les couches II, III et IV (29-49%) que dans les aires 10 et 4 (23-33%). Ce fait est dû à l'importance de la couche IV dans les aires sensorielles et se retrouve à tous les stades du développement.

L'aire 17 est l'aire qui a la partie la plus grande de son cortex occupée par les couches II, III et IV (plus de 40%).

Dans toutes les aires le groupe des couches II, III et IV prend une importance croissante au cours du développement, plus grande dans les aires 3 et 17 que dans les aires 10 et 4.

Couche V : Cette couche a l'importance la plus grande par rapport à l'épaisseur totale dans l'aire 10 (35% environ), puis dans les aires 4 et 3 (25-30%), enfin dans l'aire 17 (25% environ). L'importance de cette couche par rapport à l'épaisseur totale est assez stable au cours du développement.

Couche VI : L'importance de la couche VI par rapport à celle de l'épaisseur totale est assez analogue à celle de la couche V; par contre elle diminue constamment au cours du développement pour toutes les aires.

De manière générale, l'analyse de ces pourcentages d'épaisseur en fonction de l'épaisseur totale corrobore celle des variations d'épaisseurs au cours du développement : forte augmentation pour les couches II, III et IV, qui occupent à 30 jours une part de l'écorce plus importante qu'à 10 et 5 jours; augmentation très faible ou légère diminution pour les couches I, V et VI dont l'importance par rapport à l'épaisseur totale

THICKNESS OF THE LAYERS IN % OF TOTAL THICKNESS

DATA	5	10	30	60	150	5	10	30	60	150	5	10	30	60	150	5	10	30	60	150
LAYERS	AREA 4					AREA 10					AREA 3					AREA 17				
I	5	7	9	9	9	5	7	8	8	8	5	7	8	8	8	8	9	12	12	11
II-IV	33	31	33	32	29	36	29	30	28	28	29	35	37	38	38	32	39	43	43	49
V	33	30	29	30	29	35	35	35	36	37	30	28	27	25	27	24	27	25	26	26
VI	29	32	29	29	33	24	29	27	28	27	36	30	28	29	27	36	25	20	19	14

Tableau 9 : Epaisseur des couches dans les aires 4, 10, 3 et 17 exprimées en % de l'épaisseur totale de chaque aire.

Explications : cf. texte 5.3.

varie peu entre 5 et 30 jours. A partir de 30 jours, les proportions des différentes couches dans l'écorce ne subissent plus que de faibles variations, et une certaine stabilité est donc atteinte.

ESTIMATION DU VOLUME CORTICAL (tab.10).

Le volume cortical mesuré entre des limites anatomiques précises (volume H, chap. I, 6.1.) subit une forte augmentation jusqu'à 30 jours : entre 5 et 10 jours il a doublé ($p < 0,001$); entre 10 et 30 jours l'accroissement est encore d'environ 33% ($p < 0,001$). La valeur maximale est à 30 jours comme pour l'épaisseur corticale (5.2.).

Après 30 jours les variations du volume H suivent également celles de l'épaisseur corticale : entre 30 et 60 jours le volume diminue de 11% ($p < 0,05$), puis entre 60 et 180 jours il augmente à nouveau légèrement (6%) mais de manière non significative.

Nous voyons déjà que l'accroissement du volume cortical (comme du reste de l'épaisseur) pourra être mis en relation avec les variations de la densité neuronale (4.2.1.) puisque lorsque l'un croît l'autre décroît et inversément. Nous ne pouvons toutefois pas analyser le phénomène plus en détail, avant de connaître le comportement de la population cellulaire totale (7.) et celui du neuropile (8.).

ESTIMATION DU NOMBRE TOTAL DE CELLULES DANS LE VOLUME CORTICAL.

La diminution de la densité neuronale dans les couches corticales des aires 4, 10, 3 et 17 représente assez bien leur maturation (4.2.1.). Un certain degré de corrélation existe avec l'augmentation d'épaisseur de l'écorce (5.) et avec l'augmentation du volume cortical H (6.).

Mais la variation du volume cortical (dont l'épaisseur représente un aspect) compense-t-elle exactement celle de la densité neuronale, auquel cas le nombre total de neurones resterait identique ? Ou, au contraire, ce nombre total est-il lui-même affecté ? De plus la faible variation de la densité gliale au cours du développement (4.2.2.) représente-t-elle une réelle stabilité de la population gliale dans l'écorce ? Ou, au contraire, l'accroissement du volume cortical en masque-t-il la prolifération, par ailleurs démontrée par les méthodes autoradiographiques, DALTON et al. (1968), KRAUS-RUPPERT et al. (1973), BRÜCKNER et al. (1976) ?

Pour répondre à ces questions le nombre total de neurones et de cellules gliales a été estimé dans le volume cortical H sur la base des méthodes décrites au chapitre I (6.).

7.1. Echantillonnage cortical (tab.10).

Le calcul des densités moyennes neuronales et gliales sur toute l'épaisseur de l'écorce, pour quelques régions comprises dans le volume cortical mesuré, est nécessaire à l'estimation des quantités totales de cellules dans ce volume (chap. I, 6.2.). L'échantillonnage a été fait dans les aires étudiées 4, 10, 3 et 17 (parallélipipède unitaire de 0,00325 mm^3) et le tableau 10 représente la moyenne obtenue sur les quatre aires à chaque âge.

Pour parer à l'objection d'un nombre insuffisant d'aires ou de régions de l'écorce comme base d'échantillonnage dans le volume cortical, mentionnons que les résultats obtenus à partir de ces quatre régions sont très semblables à ceux obtenus à partir d'un plus grand nombre d'échantillons d'aires corticales, c'est-à-dire à partir des aires 10, 4, 3 et 17 (nos résultats) ainsi que des aires 2, 18, 18a, 41 et 20 (résultats de D. HEUMANN). De plus, les aires 10 et 4 motrices, l'aire 3 sensorielle réceptrice et l'aire 17 visuelle réceptrice, recouvrent trois des fonctions les plus importantes dans le cortex cérébral de la souris; l'aire 2 est également sensorielle réceptrice et occupe une assez grande part du cortex, mais elle

a une densité moyenne analogue à celle de l'aire 3.

Nous considérons ainsi que les chiffres obtenus dans notre échantillonnage sont suffisamment représentatifs de la densité cellulaire corticale moyenne, pour permettre valablement l'appréciation des nombres totaux de neurones et de cellules gliales.

.2. Nombre total de neurones (tab.10).

Les mesures de la densité neuronale moyenne dans l'écorce (chap. I, 6.2.) et du volume cortical H (chap. I, 6.1.) nous permettent d'estimer à chaque âge le nombre total de neurones dans le volume mesuré (chap. I, 6.3.).

Nous constatons ainsi que, loin d'être stable dans le développement, le nombre total de neurones diminue constamment jusqu'à 30 jours : entre 5 et 10 jours il décroît d'environ 24% ($p < 0,001$); la diminution se poursuit après 10 jours, environ 10% entre 10 et 30 jours ($p < 0,001$). Après 30 jours et jusqu'à 180 jours de faibles fluctuations ont lieu (3-6%) mais ne sont pas significatives.

Nous pouvons alors conclure que dans la relation entre la croissance du volume cortical et la décroissance de la densité neuronale, durant la maturation postnatale, intervient un processus de perte neuronale d'environ 34% (cf. discussion, 10.3.).

.3. Nombre total de cellules gliales (tab.10).

De la même manière que pour la population neuronale, nous pouvons estimer le nombre total de cellules gliales dans le volume cortical mesuré.

Nous assistons alors, en dépit des faibles variations de la densité gliale au cours du développement, à un accroissement de la quantité totale de cellules gliales dans l'écorce durant la maturation postnatale et jusqu'à 180 jours. En effet, le nombre total de cellules gliales subit une augmentation très importante jusqu'à 30 jours, puisqu'il a doublé ($p < 0,001$)

Tableau 10 : Volume cortical H, neurones et cellules gliales dans un échantillon cortical de 0,00325 mm^3, neurones et cellules gliales dans le volume H, à 5, 10, 30, 60 et 180 jours.

$\bar{X}$ = moyenne de 10 cerveaux à chaque âge.
SEM = "standard error of the mean".

Les degrés de significativité pour les variations de ces paramètres entre deux âges sont indiqués sous le tableau. Cf. texte 6. et 7.

DAYS	Cortical volume H		Neurons in 0,00325mm^3		Glia in 0,00325mm^3		Neurons in volume H		Glia in volume H	
	$\bar{x}$	SEM	$\bar{x}$	SEM	$\bar{x}$	SEM	$\bar{x}$	SEM	$\bar{x}$	SEM
5	7,25[1]	0,41	2249,6[4]	100,7	168,0[7]	5,2	4'954'981[10]	94'033	372'752[12]	11'705
10	14,61[2]	0,74	848,2[5]	27,4	119,5[8]	1,7	3'761'737[11]	97'936	538'548[13]	30'703
30	21,66[3]	0,61	490,2[6]	8,3	112,0	2,1	3'277'306	41'776	751'332	24'485
60	19,25	0,72	527,5	8,2	116,6[9]	2,5	3'127'297	81'712	695'095[14]	31'984
180	20,53	0,97	534,0	17,3	128,2	3,8	3'397'598	155'703	825'724	21'976

1) 4) 7) 10) 12) $p < 0,001$ versus age 10 days

2) 5) 11) 13) $p < 0,001$ versus age 30 days

8) $p < 0,05$ versus age 30 days

3) $p < 0,05$ versus age 60 days

6) $p < 0,01$ versus age 60 days

9) $p < 0,05$ versus age 180 days

14) $p < 0,01$ versus age 180 days

entre 5 et 10 jours et entre 10 et 30 jours). A 60 jours, le nombre de cellules gliales est légèrement inférieur à celui de 30 jours mais la différence n'est pas significative. En revanche, entre 60 et 180 jours, il y a encore une augmentation de 16% dans la population gliale ($p < 0{,}001$).

La prolifération gliale est donc, jusqu'à 30 jours au moins, masquée par l'accroissement du volume cortical (phénomène de dilution dans un volume plus grand).

8. ANALYSE QUANTITATIVE DU NEUROPILE.

8.1. Généralités.

Nous avons vu (4.2.1.) que la densité neuronale diminue dans toutes les couches au cours du développement et que cette décroissance peut être considérée comme un signe de maturation corticale. Une autre façon d'apprécier la maturation corticale consiste à observer et quantifier la croissance du neuropile (chap. I, 7.). La diminution de densité neuronale est corrélée, partiellement au moins, avec la croissance du neuropile, mais nous ne savons pas exactement de quelle manière ni dans quelles proportions. De plus, si nos courbes de densité neuronale montrent une forte décroissance entre 5 et 10 jours, elles ne montrent plus qu'une décroissance assez faible entre 10 et 30 jours. Pour mieux cerner cette période vulnérable, DOBBING (1968; 1974), nous avons étudié quantitativement certains aspects du neuropile des couches V et III dans la région visuelle (aire 17) aux âges de 5, 10, 15, 21, 30, 60 et 180 jours.

Nous savons que la maturation au niveau cytoarchitectonique quantitatif se poursuit de manière analogue dans les aires 4, 10, 3 et 17 (4.2.1.); c'est pourquoi nous avons choisi une seule de ces quatre aires pour l'étude du neuropile. La région visuelle est intéressante car elle paraît être multisensorielle chez le rat (et la souris) et réagit particulièrement aux influences de l'environnement, GLOBUS et al. (1973). De surcroît, la partie de l'aire 17 où nous effectuons nos mesures

(fig. 2, chap. I) est située à l'endroit de moindre convexité cérébrale, et par conséquent, là où nous avons le plus de facilité technique à obtenir des coupes perpendiculaires à la surface piale.

Par contre, les différentes couches corticales n'effectuent pas leur maturation quantitative de manière tout à fait similaire, les couches I, V et VI ayant une avance de développement sur les couches II, III et IV (4.2.1.). Nous avons ainsi choisi la couche V dans le premier groupe et la couche III dans le second. Dans l'impossibilité de quantifier entièrement le neuropile de ces couches, nous avons opté pour l'étude des aspects suivants :

- nombre d'épines dendritiques sur un segment de 50 microns de dendrite apical (chap. I, 7.2.)

- densité dendritique = nombre d'intersections dendritiques avec des cercles de distance croissante jusqu'à 75 microns du périkaryon (chap. I, 7.3.)

- distribution dendritique en fonction de la distance au périkaryon = nombre d'intersections avec chaque cercle (chap. I, 7.3.).

.2. Nombre d'épines sur un segment de dendrite apical.

Rappelons d'abord que les épines dendritiques représentent des contacts synaptiques privilégiés et que leur distribution sur le dendrite apical des cellules pyramidales, surtout pour la couche V, est maintenant bien connue (chap. I, 7.1.). L'appréciation de leur croissance sur un échantillon de dendrite apical représente un bon indice de la maturation des connexions corticales.

Nous avons choisi un segment de 50 microns situé à 100-150 microns du corps cellulaire pour les pyramides de la couche V et à 50-100 microns du corps cellulaire pour les pyramides de la couche III.

Ayant exclu les pyramides dont le dendrite a un diamètre supérieur à 3 microns pour des raisons techniques (chap. I, 8.3.),

nous avons séparé les dendrites analysés en deux catégories sur le critère de leur diamètre : inférieur à 1,5 microns ou entre 1,6 et 3 microns. Dans la mesure du possible*, nous avons essayé de trouver une égale proportion de dendrites quantifiables dans ces deux catégories. Nous n'avions en effet pas de raison de quantifier une catégorie plutôt qu'une autre et nous ne savions pas non plus si leur maturation s'effectuait de la même manière. De plus, les travaux de RYUGO et al. (1975a; 1975b) ont révélé une vulnérabilité plus grande des neurones à dendrite apical de petit calibre.

Le choix d'une égale proportion dans les deux catégories de dendrites est réalisable dans la couche V à partir de 15 jours (variation $\pm$ 5), mais ne l'est dans la couche III qu'à 30 et 60 jours. Dans la couche V à 10 jours et dans la couche III à 10, 15, 21 et 180 jours, nous avons trouvé une proportion plus grande de dendrites de diamètre inférieur à 1,5 microns. Le nombre de dendrites quantifiés dans chaque catégorie ne reflète pas les proportions réelles dans l'écorce; cependant, étant donné la similitude des conditions techniques, le fait que suivant l'âge et la couche, nous n'arrivions pas à trouver autant de dendrites dans chacune des deux classes de diamètre, doit revêtir une signification que nous tenterons d'analyser plus loin. Dans ce qui suit, nous nommerons parfois petits dendrites ceux qui ont un diamètre de moins de 1,5 microns et gros dendrites ceux qui ont un diamètre de 1,6 à 3 microns.

A 5 jours, nous n'avons trouvé d'épines dans aucune des deux couches sur les quelques cellules imprégnées. L'examen de cortex d'animaux âgés de 5, 6, 7, 8, 9 et 10 jours révèle que les épines apparaissent autour de 7 à 8 jours. Il y a donc entre 5 et 10 jours un saut "qualitatif" dans la maturation du neuropile. Notre étude quantitative commence à 10 jours. De manière générale on peut dire que l'augmentation du nombre d'épines jusqu'à 30 jours est considérable tant dans la couche V que dans la couche III, et aussi bien sur les dendrites de diamètre supérieur ou inférieur à 1,5 microns (fig. 15). Ce

* Conditions d'imprégnation, cellules coupées, recouvrement des dendrites, etc., cf. méth. (chap. I, 8.3.).

fait constitue l'évidence d'un très important accroissement des contacts synaptiques au cours du développement cortical postnatal.

,2.1. Couche V (fig. 15).

A tous les âges, les différences entre les moyennes obtenues sur les dendrites des deux catégories sont significatives ($p < 0,001$) avec un nombre d'épines moins élevé pour les dendrites de diamètre inférieur à 1,5 microns. A 10 jours, nous avons trouvé un tiers de petits dendrites et deux tiers de gros dendrites.

A partir de 15 jours, nous avons trouvé à peu près la même proportion de dendrites dans les deux catégories, à peine plus de petits que de gros à 15, 21, 30 jours, et l'inverse à 60 et 180 jours; à chaque âge les dendrites de plus petit diamètre ont une population d'épines inférieure de 18-26% à celle des dendrites de plus gros diamètre. Il semble ainsi bien y avoir au moins deux sortes de pyramides, le nombre d'épines dendritiques augmentant avec le diamètre du dendrite. D'une manière générale, les pyramides ayant un dendrite de plus gros calibre sont localisées un peu plus bas dans la couche V. Le fait qu'à 10 jours nous n'ayons pu trouver qu'un tiers de pyramides de diamètre supérieur à 1,5 microns et qu'à partir de 15 jours, il soit aisé d'avoir des proportions équivalentes dans les deux catégories, semble indiquer que jusqu'à 15 jours, il y a encore croissance dendritique. Une partie au moins des dendrites de calibre inférieur à 1,5 microns va augmenter son diamètre entre 10 et 15 jours.

Le nombre d'épines sur un segment de 50 microns augmente constamment jusqu'à 30 jours, pour les deux sortes de dendrites, ($p < 0,001$). L'augmentation est la plus importante entre 10 et 15 jours ($\sim 35\%$), mais est encore assez importante entre 15 et 21 jours ($\sim 25\%$) puis entre 21 et 30 jours ($\sim 20\%$), pour les deux catégories de dendrites. A partir de 30 jours, les différences ne sont plus significatives même si nous observons une légère diminution entre 60 et 180 jours.

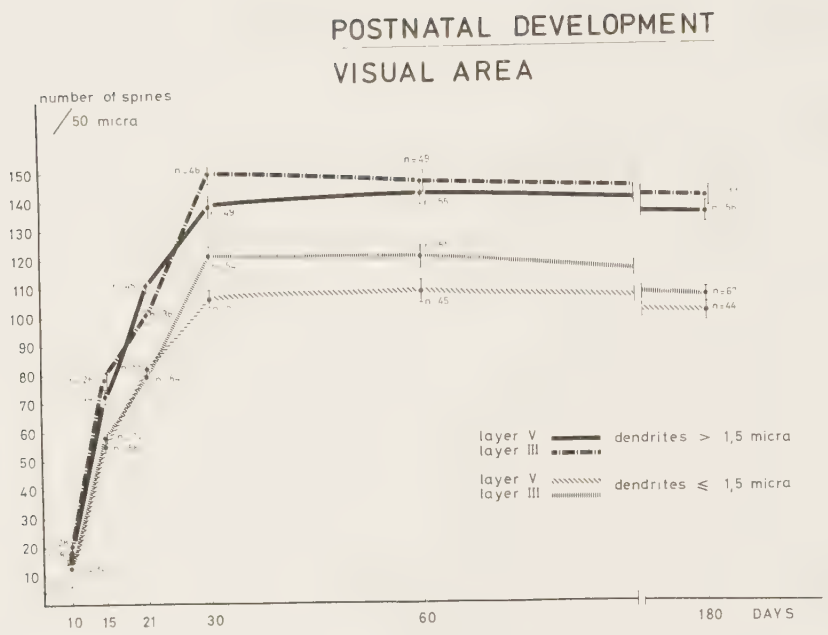


Figure 15 : Accroissement du nombre d'épines dendritiques dans le développement postnatal; aire visuelle, couches V et III.

$\bar{X} \pm$ SEM

Les épines sont comptées sur un segment de dendrite apical à 100-150 microns du corps cellulaire. Les dendrites ont été séparés en deux catégories selon leur diamètre, plus petit ou égal à 1,5 microns ou entre 1,6 et 3 microns.

Le nombre de dendrites que nous avons trouvé dans chaque catégorie à chaque âge est indiqué sur le graphique (petits chiffres) mais ne correspond pas aux proportions réelles de l'écorce. Cf. texte 8.2.

.2.2. Couche III (fig. 15).

Comme dans la couche V, nous trouvons deux catégories de pyramides d'après un critère de diamètre dendritique. Les pyramides à dendrite plus large sont souvent localisées un peu plus haut dans la couche III que les autres. A 10, 15 et 21 jours, nous avons trouvé très peu de dendrites de calibre supérieur à 1,5 microns; à 10 jours la proportion est même très faible (10%), augmentant jusqu'à 15 jours (26%) et 21 jours (36%). A 30 et 60 jours, les proportions sont à peu près équivalentes et à 180 jours il y a de nouveau moins de gros dendrites (33%). Même si ces chiffres ne correspondent pas exactement aux proportions réelles (chap. I, 8.3., chap. II, 8.1.), on peut admettre que l'augmentation du nombre de dendrites de gros diamètre jusqu'à 30 jours reflète une croissance dendritique qui se poursuit jusqu'à ce moment-là.

Dès 15 jours, le nombre d'épines sur les deux catégories de dendrites est très différent ($p < 0,001$), les dendrites de plus gros diamètre ayant un nombre d'épines plus élevé (18-26%). A 10 jours, la différence est peu significative ($p < 0,05$) sans doute en raison du très petit nombre de plus gros dendrites à cet âge. Comme dans la couche V, le nombre d'épines sur 50 microns augmente constamment et significativement ($p < 0,001$) jusqu'à 30 jours pour les deux catégories de dendrites; l'augmentation la plus importante se situe entre 10 et 15 jours, similaire pour les deux types de dendrites (38-42%). Entre 30 et 60 jours, la différence n'est plus significative; entre 60 et 180 jours, on observe une diminution de 11% ($p < 0,001$) mais seulement pour les dendrites de diamètre inférieur ou égal à 1,5 microns, dont la proportion est à nouveau plus élevée qu'à 30 et 60 jours. Les dendrites de diamètre supérieur à 1,5 microns sont moins nombreux (33%) et leur nombre d'épines est diminué de manière non significative; ce phénomène sera envisagé dans la discussion (10.).

.3. Nombre d'intersections dendritiques (fig. 16).

Le nombre d'intersections dendritiques dans un rayon de 75 microns autour du corps cellulaire, représente la somme de tou-

tes les intersections de dendrites avec huit cercles concentriques distants de 9,42 microns dans une épaisseur de coupe de 100 microns. En raison des sources d'erreurs existant dans ce type de mesure (chap. I, 7.3.), les chiffres obtenus ne reflètent certainement pas la richesse réelle du plexus dendritique, mais ils ont essentiellement une valeur de comparaison au cours du développement. Nous n'avons pas fait ici deux catégories de pyramides basées sur le critère du diamètre dendritique car le grossissement microscopique utilisé ne le permettait pas.

A 5 jours il y a déjà un début de croissance dendritique; les cellules imprégnées présentent toutes un dendrite apical sur une certaine longueur et parfois 1-3 dendrites sortant du corps cellulaire; cette croissance se poursuit progressivement, et à 10 jours, le plexus dendritique est parfaitement quantifiable. Les dendrites de la base, 3-4 pour les pyramides de la couche III et 4-5 pour les pyramides de la couche V, ne vont pas à une très grande distance du corps cellulaire (fig. 17). De manière générale, on peut dire que le développement du réseau dendritique est très important pour les deux couches jusqu'à 30 jours et qu'il témoigne directement de la maturation des connexions neuronales (fig. 16).

8.3.1. Couche V (fig. 16).

Le nombre d'intersections dendritiques augmente très significativement ($p < 0,001$) entre 10 et 21 jours, le plus entre 10 et 15 jours (25%), un peu moins entre 15 et 21 jours ($\sim$20%). Entre 21 et 30 jours, l'augmentation n'est pas significative (5%), mais elle l'est à nouveau ($p < 0,001$) entre 30 et 60 jours (7%). A 60 et à 180 jours le nombre d'intersections dendritiques est le même. L'augmentation de la densité dendritique semble ainsi se poursuivre après 30 jours, contrairement au nombre d'épines, dans la couche V.

8.3.2. Couche III (fig. 16).

Le phénomène est très semblable dans la couche III, bien que le nombre d'intersections dendritiques soit à tous les âges un peu plus petit que dans la couche V. La croissance est significa-

tive ($p < 0,001$) jusqu'à 60 jours, surtout très importante entre 10 et 15 jours (26%) et entre 15 et 21 jours (17%), un peu moins entre 21 et 30 jours (14%). Entre 30 et 60 jours, on observe encore une augmentation significative ($p < 0,001$) de 13% mais à 60 et 180 jours le nombre d'intersections est le même.

8.4. Distribution dendritique (fig. 17).

Alors que le nombre d'intersections dendritiques (8.3.) fournit une appréciation de la somme des intersections dans un rayon de 75 microns autour du corps cellulaire, la distribution dendritique montre leur répartition en fonction de la distance au périkaryon. Les mêmes sources d'erreurs sont inhérentes à la méthode (chap. I, 7.3.) mais, à nouveau, l'étude de cerveaux traités de manière identique permet la comparaison.

En particulier, la variation de cette distribution en fonction de l'âge nous renseigne également sur la maturation du réseau dendritique, car lorsque les dendrites croissent, la distance du corps cellulaire à laquelle on trouve le maximum d'intersections augmente. C'est en effet ce que nous observons (fig. 17) : la distance maximale pour le nombre d'intersections dendritiques augmente jusqu'à 21 jours, rapidement pour la couche V, un peu plus lentement pour la couche III. Ensuite, elle ne varie plus. En effet, à 10 jours, le nombre maximum d'intersections est situé à 28,26 microns du corps cellulaire pour la couche V et à 18,84 microns pour la couche III. A 15 jours, il est à 37,68 microns pour la couche V et à 28,26 microns pour la couche III. A partir de 21 jours, il est à 47,10 microns pour les deux couches, et le phénomène est identique à 30, 60 et 180 jours.

A tous les âges étudiés, la répartition des dendrites dans les couches V et III suit une courbe relativement semblable et nous retrouvons la différence de densité dendritique entre les deux couches (fig. 16) dans la courbe de distribution autour du périkaryon (fig. 17). A 60 jours cependant, le maximum de

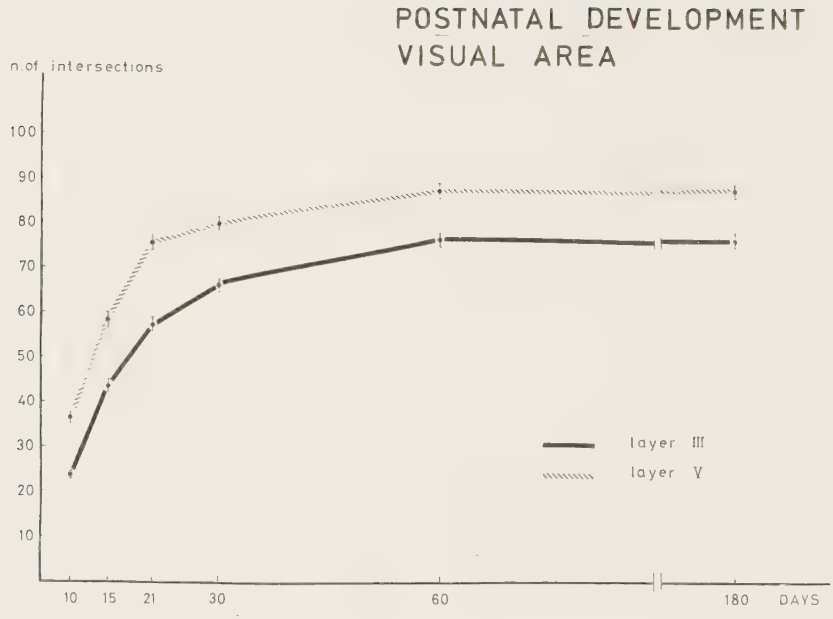


Figure 16 : Développement postnatal : augmentation du nombre total d'intersections dendritiques avec 8 cercles concentriques dans un rayon de 75 microns autour du corps cellulaire; aire visuelle, couches V et III.

$\bar{X} \pm$ SEM

Cf. texte 8.3.

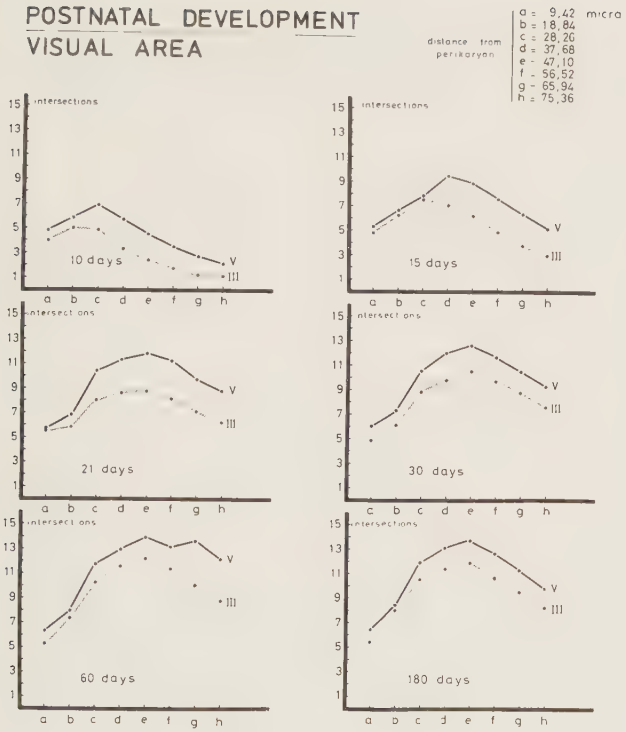


Figure 17 : Développement postnatal : distribution des intersections dendritiques en fonction de la distance au périkaryon; aire visuelle, couches V et III.

Représentation du nombre moyen d'intersections avec des cercles d'éloignement croissant (a, b, c, d, e, f, g, h) jusqu'à 75,36 microns du corps cellulaire.

Cf. texte 8.4.

branchements dendritiques s'étend sur une bande plus large (de 47 à 66 microns environ) qu'à 30 et 180 jours, où la régression à partir du maximum est immédiate. Il semble exister un moment dans la dynamique corticale où le "pattern" de connectivité est un peu différent.

8.5. Comparaison des couches V et III (fig. 15-16-17).

A 10 jours, les pyramides de la couche V ont un plus grand nombre d'épines que celles de la couche III dans les deux catégories de dendrites, mais le nombre de gros dendrites étant très faible dans les deux couches, la différence n'est significative ($p < 0,001$) que pour les petits dendrites. A 15 jours, les chiffres ne sont pas significatifs; à 21 jours, seules les pyramides à plus gros dendrite de la couche V ont plus d'épines que celles de la couche III ($p < 0,001$); à 21 jours, les pyramides des deux catégories ont plus d'épines dans la couche III ($p < 0,001$, $p < 0,05$). A 60 et 180 jours, les populations d'épines ne sont pas significativement différentes dans les deux couches.

Le nombre d'épines étant analogue dans les couches V et III, à l'âge adulte, et même un peu plus élevé en III qu'en V à 30 jours, le fait qu'il soit plus petit à 10 jours dans la couche III, associé au fait que nous n'avons trouvé dans cette couche que 10% de dendrites de diamètre supérieur à 1,5 microns, indique qu'à cet âge la couche III manifeste un retard de maturation par rapport à la couche V. Entre 10 et 15 jours, l'augmentation du nombre d'épines, très importante pour les deux couches (35-40%), est légèrement supérieure pour la couche III, qui semble ainsi rattraper son retard.

La densité d'intersections dendritiques est différente à tous les âges entre les couches V et III; l'augmentation entre 10 et 15 jours est moins importante qu'elle ne l'est pour les épines, mais plus importante pour la couche III (46%) que pour la couche V (33%). Elle est encore significative pour la couche III entre 21 et 30 jours mais non pour la couche V. De plus, le nombre maximum d'intersections dendritiques autour du

périkaryon est à 10 et 15 jours plus proche du corps cellulaire dans la couche III que dans la couche V. Au cours du développement, cette distance augmente, signe de maturation, plus vite pour la couche V que pour la couche III.

En fonction de ces critères, nombre d'épines, proportion de dendrites de plus ou moins grand diamètre, densité et répartition d'intersections dendritiques, il apparaît que la couche III manifeste un retard de maturation du neuropile par rapport à la couche V jusqu'à 21 jours au moins.

La diminution de densité neuronale (4.2.1.) est ainsi effectivement corrélée avec un fort accroissement du neuropile, et le retard de maturation de la couche III sur la couche V se retrouve aux deux niveaux. C'est le neuropile qui reflète directement la connectivité de l'écorce mais ses variations présentent avec les variations de la densité neuronale un degré de corrélation suffisant pour que ces dernières soient utilisées comme témoin de maturation.

9. IMPORTANCE RELATIVE DES DIFFERENTS PARAMETRES DE LA MATURATION CORTICALE.

Les différents paramètres corticaux que nous avons étudiés jusqu'ici, diamètre nucléaire (4.1.), densité cellulaire (4.2.), épaisseur et volume (5., 6.), nombre total de cellules (7.) et enfin neuropile (8.) sont caractéristiques du développement de l'écorce. Ils n'évoluent pas de manière indépendante et nous allons tenter de comprendre quels types de liens les unissent.

9.1. Maturation rapide.

La croissance corticale progresse très rapidement entre 5 et 10 jours, puis entre 10 et 30 jours pour tous les paramètres étudiés; le neuropile manifeste cependant un léger décalage, sa croissance étant la plus forte d'abord entre 10 et 15 jours, puis entre 15 et 21 jours, enfin entre 21 et 30 jours.

Le volume et les nombres totaux de cellules se présentent comme des caractères "globaux" du cortex cérébral. Nous pouvons comparer leur évolution avec celle des caractères spécifiques des couches, densités neuronales et gliales, neuropile, en obtenant pour ces derniers des moyennes tenant compte des différentes couches et aires étudiées (fig. 18).

La forte augmentation du volume cortical (dont l'épaisseur représente une des dimensions) entre 5 et 10 jours, puis entre 10 et 30 jours (66%), est accompagnée des phénomènes suivants :

a) au niveau neuronal (fig. 18, I) : diminution de la densité moyenne (78%)
diminution du nombre total (35%).

L'importante diminution de la densité neuronale jusqu'à 30 jours correspond ainsi à l'écartement des neurones les uns des autres dans un volume cortical croissant, mais aussi à la perte d'un certain pourcentage du nombre total de neurones dans l'écorce.

b) au niveau glial (fig. 18, II) : diminution de la densité moyenne (34%)
augmentation du nombre total (55%).

La diminution de la densité gliale, importante surtout jusqu'à 10 jours, correspond également à une dilution dans un volume cortical agrandi. Cependant, le nombre total de cellules gliales, contrairement au nombre total de neurones, subit une augmentation et participe à l'accroissement du volume cortical, si bien que la densité gliale diminue infiniment moins que la densité neuronale.

c) au niveau du neuropile (fig. 18, III) : augmentation des épines dendritiques (84%)
augmentation des intersections dendritiques (54%).

d) On peut également corréler la diminution de densité neuronale avec l'augmentation appréciable du neuropile, épines et intersections dendritiques (fig. 18, IV).

La considérable croissance du neuropile entre 10 et 30 jours suit de très près celle du volume cortical (fig. 18, III); en revanche, elle varie (avec un léger décalage), en sens inverse

de la densité neuronale (fig. 18, IV).

Ainsi dans l'augmentation du volume cortical interviennent l'augmentation de la population gliale et surtout celle du neuropile; cette dernière est corrélée avec la diminution de densité neuronale, elle-même partiellement due à une perte de neurones. Interviennent aussi, mais pour une plus faible part, l'augmentation du volume nucléaire neuronal, et fort vraisemblablement celle de deux paramètres que nous n'avons pas encore quantifiés : le volume des périkarya neuronaux et l'augmentation des cellules endothéliales.

L'épaisseur corticale totale, que nous n'avons pas représentée ici (cf. fig. 9-12), évolue de la même manière dans les quatre aires étudiées que le volume cortical, avec une très forte augmentation jusqu'à 30 jours. Si nous considérons les différentes couches dans les aires 10, 4, 3 et 17, nous constatons que c'est dans le groupe des couches II, III et IV que l'épaisseur s'accroît le plus entre 5 et 30 jours et que c'est dans ces mêmes couches que la densité neuronale décroît le plus. Dans les couches I, V et VI, la diminution de densité neuronale est beaucoup moins grande et il en va de même de l'accroissement d'épaisseur.

Ainsi cette dernière peut être considérée pour les différentes couches comme un paramètre analogue à celui du volume pour le cortex pris dans son entier; il s'avère que les mêmes corrélations existent ici qu'à un niveau plus global : l'augmentation d'épaisseur est à mettre en relation avec la diminution de la densité neuronale, qui représente jusqu'à 30 jours, à la fois l'augmentation du neuropile et une certaine perte neuronale.

.2. Plasticité corticale.

A partir de 30 jours, nous assistons à la relative stabilisation de la plupart des paramètres étudiés, mais certains processus de remaniement ont lieu, indiquant que la période généralement considérée comme adulte se caractérise en fait par

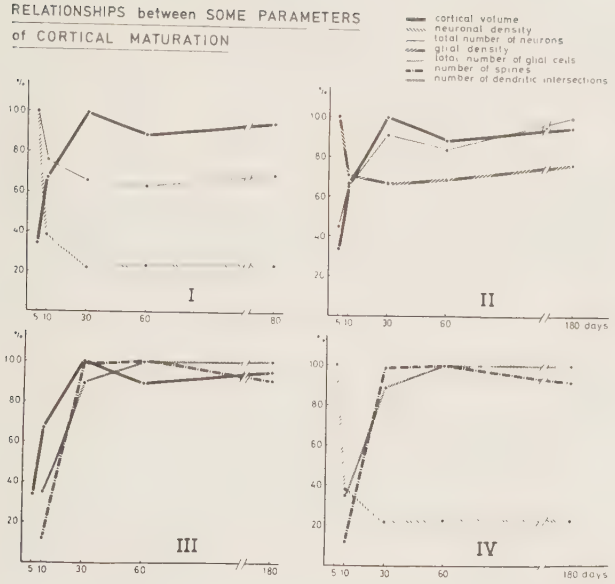
une assez grande plasticité corticale. Ces remaniements sont plutôt indiqués par des tendances que par des variations hautement significatives, mais néanmoins, nous les retrouvons pour tous les paramètres étudiés.

Ainsi le volume du cortex est un peu plus petit à 60 jours qu'à 30 jours, la diminution étant peu significative ($p < 0,05$) (tab.10, fig. 18). Inversément, la densité neuronale moyenne est plus élevée à 60 jours qu'à 30 jours ($p < 0,01$) (tab.10) mais la différence en pourcentage de la valeur totale est très faible (fig. 18). A 180 jours, le volume cortical est à nouveau légèrement plus élevé et la densité neuronale moyenne légèrement plus faible qu'à 60 jours, mais de manière non significative.

La densité neuronale dans les couches corticales et leur épaisseur individuelle subissent évidemment le même phénomène : lorsque l'épaisseur est plus faible, la densité neuronale est souvent plus élevée (60 jours) et inversément (180 jours) (tab. 3-6, tab. 8).

Les variations de ces deux paramètres restent liées après 30 jours comme dans la phase de maturation rapide, avec la différence que des modifications significatives dans le nombre total de neurones n'interviennent plus (tab.10, fig. 18). La densité gliale, elle, augmente légèrement entre 30 et 60 jours, pas assez cependant pour compenser la diminution du volume cortical, si bien que le nombre total de cellules gliales dans ce volume diminue aussi (variation non significative). Entre 60 et 180 jours, l'augmentation de densité gliale est alors suffisamment forte pour que la croissance du nombre total de cellules - prolifération gliale - dépasse celle du volume cortical (tab.10, fig. 18).

Quant au neuropile, il subit encore des modifications à partir de 30 jours. Le nombre d'intersections dendritiques augmente entre 30 et 60 jours avec, à 60 jours, une zone de branchement dendritique maximum plus large qu'à 30 et 180 jours dans la couche V (fig. 16 et 17). Le nombre d'épines dendritiques, lui, diminue légèrement entre 60 et 180 jours (fig. 15). Des remaniements ont vraisemblablement lieu à ces niveaux.



gure 18 : Relations entre quelques paramètres de la maturation corticale.

I : Volume cortical, densité neuronale moyenne dans les aires 4, 10, 3 et 17, nombre total de neurones.

II : Volume cortical, densité gliale moyenne dans les aires 4, 10, 3 et 17, nombre total de cellules gliales.

III : Volume cortical, nombre d'intersections et d'épines dendritiques moyen dans les couches V et III de l'aire 17.

IV : Densité neuronale moyenne dans les aires 4, 10, 3 et 17, nombre d'intersections et d'épines dendritiques moyen dans les couches V et III de l'aire 17.

Toutes les valeurs sont exprimées en pourcentage de leur valeur maximale. Elles ne représentent toutefois que des moyennes et ont essentiellement valeur de comparaison générale dans la maturation de l'écorce. Pour plus d'explications, cf. texte (9).

Il n'y a donc pas de réelle stabilité corticale à l'âge adulte pour les paramètres que nous avons étudiés, mais nous pouvons néanmoins considérer que la phase de développement rapide est terminée à 30 jours.

10. DISCUSSION.

Nous avons abordé le développement normal du cortex cérébral après la naissance en étudiant quantitativement un certain nombre de paramètres importants, et nous allons maintenant les discuter en relation avec les processus de maturation qu'ils sous-tendent.

10.1. Maturation différentielle des couches.

Rappelons brièvement que la mise en place précoce des neuroblastes dans les différentes couches de l'écorce a été en grande partie élucidée par les méthodes autoradiographiques, ANGEVINE et SIDMAN (1961), BERRY et ROGERS (1965), HICKS et d'AMATO (1968), BISCONTE et MARTI (1975), BRÜCKNER et al. (1976).

Les neurones destinés au cortex sont formés de manière essentiellement prénatale, 13-20ème jour embryonnaire et se mettent en place de l'intérieur vers l'extérieur de l'écorce. Il semble que la migration neuronale soit terminée à la naissance chez le rat et la souris et que les cellules marquées à partir du 20-21ème jour de gestation soient destinées à devenir de la glie. Cependant, le temps de migration augmente au fur et à mesure que la zone migratoire s'élargit et les cellules produites entre 19 et 21 jours embryonnaires (gestation : 21 jours) vont mettre encore 5-7 jours pour atteindre leur destination dans les couches externes de l'écorce, HICKS et d'AMATO (1968).

La mise en place n'est pas terminée à la naissance et il est impossible de distinguer les différentes régions de l'écorce ni leur disposition en couches; la densité cellulaire est très forte partout et l'étude quantitative ne se révèle valable avec nos méthodes qu'à partir de 5 jours, moment où les aires et leur stratification commencent à être reconnaissables (chap. I, 6.3.5.).

9.1.1. Densité neuronale et épaisseur corticale.

Nous avons utilisé l'évolution de la densité neuronale à l'intérieur d'une couche comme moyen d'apprécier son degré de maturation. En effet, la diminution du nombre de neurones par unité de volume correspond généralement à un accroissement du réseau de connexions dans l'écorce, HADDARA (1956), BRIZZEE et JACOBS (1959), EAYRS et GOODHEAD (1959), RABINOWICZ (1964). Nous-même avons montré que ces deux processus peuvent effectivement être corrélés mais qu'un autre phénomène intervient également dans la décroissance de la densité neuronale : la perte d'une certaine quantité de neurones dans le développement postnatal (9.1.). La variation de la densité neuronale reste cependant un bon critère de maturation.

Dans les quatre aires étudiées 10, 4, 3 et 17 (fig. 14) c'est entre 5 et 10 jours que la densité neuronale décroît le plus pour toutes les couches; cependant, la diminution la plus forte se présente pour la couche II, ensuite pour les couches III et IV; elle est nettement moins importante pour les couches V et VI, et se montre la plus faible pour la couche I. Dans les aires 10, 4 et 3 qui contiennent une couche VIb, cette dernière se comporte de manière analogue à la couche I. Entre 10 et 30 jours, la densité neuronale diminue beaucoup moins dans toutes les couches, mais toujours plus dans les couches II, III et IV que dans les couches I, V et VI.

Nous pouvons donc admettre l'ordre de maturation suivant : I et VIb, puis V et VIa (ou VI), puis III-IV, puis II; un ordre du même type a déjà été suggéré pour le développement humain, par CONEL (1939) chez le nouveau-né, par RABINOWICZ (1964) chez le prématuré et par MARIN-PADILLA (1970), également chez le prématuré et le nouveau-né.

La maturation précoce des grosses pyramides de la couche V et l'avance de maturation de cette couche ont également été rapportées par de nombreux auteurs : SUGITA (1918a), EAYRS et GOODHEAD (1959) chez le rat, PURPURA et al. (1964) chez le chat, ÄSTROM (1967) chez le mouton, STENSAAS (1968) chez le lapin, MOREST (1970) chez l'opossum, MOLLIVER et VAN DER LOOS (1970) chez le chien.

La maturation quantitative des couches profondes V et VI avant les couches superficielles II, III et IV montre que le développement postnatal suit dans une certaine mesure l'ordre de mise en place embryonnaire de l'intérieur vers l'extérieur du cortex. Cependant, d'après nos critères de densité neuronale, la couche V est mature avant la couche VI (sauf lorsqu'il y a une couche VIb), et surtout la couche I, la plus superficielle, est la première mature. Il y aurait donc certains chevauchements dans le développement postnatal des différentes couches. BISCONTE et MARTI (1975), dans une récente étude autoradiographique, ont du reste remis en question la mise en place des couches selon un schéma strict de VI vers I et indiqué des chevauchements déjà dans la période embryonnaire. RAKIC (1974) a également suggéré que la mise en place de la couche I pourrait se faire avant toutes les autres.

Il semble ainsi que le groupe des couches II, III et IV suive bien un modèle de maturation différent de celui des couches I, V et VI. La période cruciale, pour notre étude qui commence à 5 jours, se trouve entre 5 et 10 jours pour toutes les couches qui présentent à ce moment-là la plus forte diminution de densité neuronale. Nous avons vu qu'entre 5 et 10 jours, la densité neuronale décroît beaucoup plus dans les couches II, III et IV que dans les couches I, V et VI, et il est probable que pour ces dernières, le maximum de maturation se produise avant 5 jours; on se trouverait alors entre 5 et 10 jours dans la phase de ralentissement du phénomène. Cela est corroboré par le fait qu'entre 5 et 10 jours et même jusqu'à l'âge adulte, la couche VI et la couche V perdent de leur importance relative; la proportion qu'elles occupent par rapport à l'épaisseur totale diminue. Les couches II, III et IV, elles, gagnent constamment en épaisseur à partir de 5 jours et jusqu'à l'âge adulte. RICE (1974) a montré que chez la souris, les couches V et VI ont atteint leur épaisseur adulte au 3ème jour postnatal alors que l'épaisseur des couches II, III et IV représente à peine la moitié de celle de l'adulte à 5 jours (aire 2). KEMPER et al. (1973) ont également démontré chez le singe que les couches V et VI perdent de leur épaisseur dans la matu-

ration postnatale et que les couches II, III et IV en gagnent.

La période entre 5 et 10 jours semble donc primordiale chez la souris pour le développement quantitatif des couches II, III et IV et leur organisation en tant que couches distinctes. En effet, à 5 jours, le groupe des couches II, III et IV est bien délimité du côté des couches I et V, mais à l'intérieur même du groupe, des démarcations nettes entre couches n'existent guère; nos comptages sont du reste effectués dans des zones correspondant à la place des futures couches II, III et IV bien individualisées à 10 jours. A 5 jours, la zone correspondant à la future couche IV dans les aires sensorielles est quelquefois moins dense que la zone correspondant à la future couche III, alors qu'à 10 jours ce sera le contraire. Dans les stades immatures, tous les cerveaux ne sont pas au même stade de développement et présentent même de fortes variations individuelles; ce sont les cerveaux les moins développés qui accusent le plus fortement ce phénomène de renversement des densités relatives dans les couches III et IV entre 5 et 10 jours. Il faut remarquer aussi qu'à 5 jours on trouve dans ces couches, outre de jeunes neurones déjà reconnaissables, un certain nombre de petites cellules foncées, vraisemblablement des neuroblastes ayant juste terminé de migrer.

Ces faits, comme d'ailleurs la présence d'une certaine quantité de neurones dans l'axe blanc, parlent en faveur d'une prolongation de la migration dans la première partie du développement postnatal. En 1968, HICKS et d'AMATO avaient suggéré que les neurones générés autour de la naissance mettaient encore 5-7 jours pour atteindre leur destination dans les couches externes de l'écorce. Plus récemment, RICE (1974) a montré que l'apparition des tonneaux dans la couche IV de l'aire 2 chez la souris coïncidait au 3ème jour postnatal avec la fin de la migration dans les couches V et VI, et BRÜCKNER et al. (1976) ont démontré la présence d'un très faible pourcentage de neurones produits au moment de la naissance.

Il se pourrait aussi que l'on assiste à une migration intracorticale des couches V et VI vers les couches II, III et IV,

ce qui expliquerait la relative diminution d'épaisseur des unes et l'augmentation des autres. De plus, il pourrait exister à l'intérieur des couches II, III et IV certains phénomènes de réorganisation cellulaire comme nous l'avons mentionné plus haut.

10.1.2. Neuropile.

L'avance de maturation des couches I, V et VI sur les couches II, III et IV semble maintenant démontrée par l'évolution de la densité neuronale, témoin indirect de la croissance du neuropile. Nous pouvons cependant confronter ces deux phénomènes.

Notre étude quantitative du neuropile ne commence qu'à 10 jours, car à 5 jours l'imprégnation au Golgi est très faible; les dendrites basaux ne sont pratiquement pas visibles et les épines dendritiques, représentant les sites postsynaptiques, n'apparaissent pas. Cela ne signifie pas pour autant qu'il n'y ait pas à cet âge de synapses fonctionnelles dans le cortex cérébral, mais vraisemblablement qu'elles ne sont pas susceptibles d'être révélées par la méthode de Golgi. KRISTT et MOLLIVER (1976) ont démontré chez le rat une augmentation importante de synapses en ultrastructure, entre la naissance et 6 jours postnatal. MELLER et al. (1968) ont établi chez la souris que, si en microscopie électronique les synapses sont déjà visibles sur les dendrites apicaux dans la première semaine de vie, en revanche les épines ne sont évidentes qu'au 8ème jour postnatal. Nos observations de cortex d'animaux âgés de 5 à 10 jours montrent que les épines apparaissent autour de 7-8 jours dans la couche V et autour de 8-9 jours dans la couche III, confirmant ainsi l'observation de MELLER et al. (1968), et indiquant à nouveau une légère avance de maturation dans la couche V avant 10 jours.

Le maximum d'accroissement du neuropile (épines et dendrites) intervient ensuite pour les deux couches entre 10 et 21 jours, manifestant un décalage sur le pic de décroissance de la densité neuronale qui a lieu entre 5 et 10 jours. Nous devrions donc retrouver entre 10 et 21 jours une croissance avancée du

neuropile dans la couche V. En effet, à 10 jours le nombre d'épines sur le dendrite apical est plus grand dans la couche V que dans la couche III, alors qu'il n'y a pas de différence à l'âge adulte; entre 10 et 15 jours, l'augmentation du nombre d'épines comme celle des intersections dendritiques est plus importante pour la couche III que pour la couche V qui semble ainsi rattraper son retard; enfin, à 10 et 15 jours, le nombre maximum d'intersections dendritiques se trouve plus proche du corps cellulaire dans la couche III que dans la couche V, alors que ce n'est plus le cas à l'âge adulte (8.5.). L'avance de maturation de la couche V sur la couche III est ainsi confirmée par l'étude directe de certains éléments du neuropile. Ce phénomène n'a, à notre connaissance, pas encore été quantifié de manière précise à deux niveaux différents permettant la corrélation, densité neuronale et neuropile. Le décalage des pics de décroissance de densité neuronale et de croissance du neuropile a cependant été observé par EAYRS et GOODHEAD (1959) chez le rat et par CRAGG (1975a) chez le chat.

L'augmentation du neuropile dans la couche V a en revanche été étudiée par quelques auteurs chez les rongeurs. Au cours du développement, un accroissement des branchements dendritiques et l'éloignement progressif du maximum d'intersections du corps cellulaire a été démontré par EAYRS et GOODHEAD (1959) chez le rat, la distance étant de 54 microns à partir de 24 jours; nos résultats sont concordants (environ 47 microns à partir de 21 jours) et corroborent aussi ceux de CORDERO et al. (1976) chez le rat (environ 50 microns). Une augmentation maximale du nombre d'épines dendritiques entre 10 et 20 jours, comme dans nos résultats, a été trouvée par VALVERDE (1968) chez la souris, mais nos chiffres de population d'épines sur le dendrite apical ne concordent pas avec les siens ni du reste avec ceux de nombreux auteurs ayant établi des données de ce type chez des animaux adultes.

Nous trouvons à l'âge adulte environ 2,8 épines/micron sur les dendrites de plus de 1,5 microns de diamètre et environ 2 épines/micron sur les dendrites de diamètre plus petit ou égal à 1,5 microns. La plupart des auteurs ont mesuré des nombres in-

férieurs aux nôtres, maximum entre 0,5 et 1 épine/micron : MARIN-PADILLA (1967) chez l'homme, MARIN-PADILLA et STIBITZ (1968) chez le hamster, VALVERDE (1967; 1968) chez la souris, KUNZ et al. (1974), RYUGO et al. (1975a; 1975b), PARNAVELAS et GLOBUS (1976), WEST et KEMPER (1976), chez le rat, KEMPER et al. (1973) chez le singe, etc.

La plupart de ces auteurs ont effectué leurs comptages d'épines à un grossissement de 450-500 X. SALAS et al. (1974), qui ont trouvé plus de 1 épine/micron (chez le rat), ont effectué leurs comptages à un grossissement de 785 X. Notre grossissement est de 2000 X et l'objectif utilisé dispose d'un fort pouvoir de résolution (chap. I, 9.2., 9.3.); c'est probablement une des raisons qui explique la différence de nos résultats. Pour le vérifier, nous avons tenté de mesurer le nombre d'épines avec un grossissement plus faible et nous avons effectivement trouvé des résultats inférieurs pour la même population. Les épines souvent se chevauchent, celles qui partent du centre du dendrite dépassent à peine le tronc dendritique et il est aisé de les manquer suivant le système optique utilisé. De plus, nous avons restreint notre étude à des dendrites mesurant moins de 3 microns de diamètre, car le risque de sous-estimer le nombre d'épines est plus fort pour les dendrites de plus gros calibre; nous avons également effectué une correction pour les épines situées sous le dendrite, ces deux éléments n'ayant pas été pris en considération par les auteurs cités. Des différences dans la technique de Golgi utilisée, Golgi rapide pour la plupart des auteurs, Golgi-Cox-Van der Loos pour nous, peuvent aussi partiellement expliquer la divergence des résultats (chap. I, 9.2., 9.3.).

10.2. Mort neuronale.

Jusqu'à 30 jours, la densité neuronale diminue alors que le volume cortical H augmente; mais si l'augmentation de volume compensait exactement la diminution de densité neuronale, elle-même représentative dans une grande mesure de la croissance du neuropile, le nombre total de neurones à chaque âge devrait rester le même.

Or nous constatons dans notre estimation du nombre total de neurones une diminution d'environ 30% entre 5 et 30 jours dans le volume cortical H. Cette disparition de 30% de neurones au cours du développement postnatal représente vraisemblablement une mort neuronale, bien que nous n'ayons jamais observé de signe évident de dégénérescence ou de nécrose, noyaux pycnotiques ou cellules fantômes (tab. 10).

Le concept de mort cellulaire, et plus particulièrement neuronale au cours du développement du système nerveux, est relativement ancien, remis en vigueur par GLÜCKSMANN (1951) et KÄLLEN (1955) dans des études portant sur le développement embryologique. Cependant, en 1946 déjà, ROMANES avait démontré une perte de neurones de 30% dans la corne ventrale de la moelle, entre le 2ème et le 12ème jour postnatal chez la souris, et en 1949, HAMBURGER et LEVI-MONTALCINI avaient prouvé une mort cellulaire dans le développement des ganglions spinaux de l'embryon de poulet.

Plus récemment COWAN (1973) a fait une revue des travaux et notions sur la mort cellulaire dans la croissance du système nerveux. La plupart de ces travaux concernent le poulet et les batraciens, mais le phénomène semble très commun. COWAN et WENGER (1968), HAMBURGER (1975), CLARKE et al. (1976) etc., ont montré des pertes neuronales allant de 50 à 75% dans différentes structures nerveuses en développement chez l'embryon de poulet.

Chez la souris, MLONYENI (1967) a décrit une perte de neurones de 30% environ dans le développement postnatal du noyau cochléaire, ZILLES et WINGERT (1973) ont montré également une perte de 30% de neurones dans le noyau oculomoteur entre la naissance et le 20ème jour postnatal. SCHLESSINGER et al. (1974) ont suggéré dans le gyrus denté du rat, une mort cellulaire de 40% d'après le comptage des noyaux marqués à 3 semaines d'intervalle chez des animaux ayant reçu une seule injection de thymidine H^3. De plus, dans le corps genouillé latéral de la souris (HEUMANN; résultats non publiés), on assiste de nouveau à une disparition d'environ 30% de neurones entre la naissance

et l'âge adulte. Aucun des auteurs cités n'a observé de cellules en voie de nécrose ou totalement nécrotiques.

Pour une formation nucléaire, les résultats sont plus faciles à assurer car il s'agit d'une structure bien délimitée dont le volume est relativement facile à mesurer ainsi que la quantité totale de cellules. Dans le cas du cortex cérébral, notre volume H est une approximation du volume réel pour les raisons discutées dans le chapitre technique; mais l'estimation a été effectuée de la même manière à chaque âge et nous pensons que les résultats représentent assez bien le phénomène. Il semble exister dans le cortex cérébral aussi une mort neuronale importante au cours du développement. STURROCK (1974), dans son étude sur le développement de la commissure blanche antérieure, a observé 3 pics de nécrose, le premier au moment de la naissance, le deuxième entre 8 et 11 jours postnatal et le troisième autour de 25 jours postnatal. Il s'agit bien sûr de cellules gliales, mais cela montre que le phénomène de mort cellulaire au cours du développement doit être très commun.

COWAN (1973) suggère qu'il y a vraisemblablement une surproduction neuronale dans la maturation, régulation fine par l'élimination des neurones qui n'ont pas établi de synapses; le pic de mort cellulaire survient en effet fréquemment au moment ontogénétique de l'établissement des principales connexions avec la périphérie. Or on sait que dans le cortex cérébral du souriceau nouveau-né, la majeure partie des dendrites n'ont pas encore effectué leur croissance, HADDARA (1956), EAYRS et GOODHEAD (1959), MELLER et al. (1968). Le développement dendritique est essentiellement postnatal comme l'attestent autant les résultats de ces auteurs que notre étude de l'évolution de la densité neuronale et du réseau dendritique. Il est ainsi fort vraisemblable qu'aux principaux moments d'établissement des liaisons avec la périphérie, on assiste à des phénomènes de compétition, suivis d'une mort massive des neurones n'ayant pas réussi à créer de synapses. D'autres hypothèses en vigueur suggèrent que la mort d'un grand nombre de cellules à un moment crucial du développement pourrait produire un ré-

servoir métabolique pour la croissance des cellules restantes, PRESTIGE (1974), ou alors que les neurones disparaissant seraient des cellules à mauvaise spécificité génétique, CLARKE et al. (1976).

Le décalage du pic de croissance de densité neuronale et de mort neuronale, entre 5 et 10 jours, et du pic d'accroissement de certains éléments du neuropile, entre 10 et 21 jours, parlerait en faveur d'une utilisation du substrat constitué par les cellules mortes pour la croissance des prolongements et des épines dendritiques. Mais cela n'exclut pas le fait que la mort neuronale peut être due à des phénomènes de compétition synaptique au moment crucial de l'établissement des connexions.

3. Prolifération gliale.

Le nombre de cellules gliales par unité de volume varie peu au cours du développement à l'intérieur d'une même couche. La densité gliale, légèrement plus élevée à 5 jours doit être discutée;les premières cellules gliales destinées au cortex étant formées autour de la naissance d'après BERRY et ROGERS (1965), HICKS et d'AMATO (1968), BRÜCKNER et al. (1976), il est vraisemblable qu'on en trouve déjà un certain nombre dans les couches corticales à 5 jours chez la souris. Dans les couches plus matures, I, V et VI, on peut les distinguer des neurones avec assez de certitude; dans la couche II, très dense, nous n'avons pas pu les compter et dans les couches III et IV, la confusion est possible avec les neuroblastes à petit noyau et sans cytoplasme visible. A partir de 10 jours, la détermination nous a paru sûre et dès lors la densité gliale reste assez stable dans chaque couche, hormis une légère augmentation à 180 jours, surtout dans les couches IV, V et VI (4.2.2.).

Cette relative stabilité ne signifie pas qu'il n'y a pas de prolifération gliale mais plutôt qu'elle est absorbée par l'augmentation du volume cortical. En effet, l'estimation de la quantité totale de cellules gliales dans le volume cortical H (tab.10) montre que cette dernière passe de 370.000 cellules gliales à 5 jours à 550.000 cellules gliales à 10 jours et à

825.000 cellules gliales à 180 jours, ce qui représente une augmentation de plus du double (55%) entre 5 et 180 jours.

En fait, l'augmentation est surtout importante jusqu'à 30 jours (50%), parallèle à l'augmentation du volume cortical. A 60 jours, le volume cortical est un peu plus petit qu'à 30 jours, et la densité gliale n'ayant pas varié significativement entre 30 et 60 jours, le nombre total de cellules gliales l'est nécessairement aussi. Cependant, si c'est à 30 jours que le volume cortical est à sa valeur maximale, ce fait se produit à 180 jours seulement pour le nombre total de cellules gliales, lequel augmente encore de 10% environ entre 30 et 180 jours. Il existe donc bien une prolifération gliale importante au cours du développement, continuant à l'âge adulte dans le cortex cérébral de la souris.

D'autres auteurs ont également démontré une prolifération gliale dans le cortex cérébral du rat ou de la souris avec différentes méthodes morphométriques, BRIZZEE et al. (1964; 1968), LING et LEBLOND (1973), et surtout avec des études autoradiographiques : MESSIER et al. (1957), HOMMES et LEBLOND (1967), DALTON et al. (1968), KORR et al. (1973; 1975), KRAUS-RUPPERT et al. (1973), MARES et LODIN (1974), BRÜCKNER et al. (1976). Notre travail est cependant le seul à tenir compte du nombre total de cellules gliales dans le cortex et non d'un indice de densité ou de marquage.

Une prolifération gliale importante a également été rapportée par VAUGHN (1969) dans le tractus optique et par MORI et LEBLOND (1969) dans le corps calleux. Nos chiffres mesurés dans la substance blanche ne montrent pas d'augmentation de la densité gliale avec l'âge mais, là, de nouveau, il s'agit certainement d'une dilution du nombre de cellules gliales dans un volume de substance blanche augmenté. Nous n'avons pas mesuré ce volume (difficulté de délimitation précise), mais à cet égard, un travail de STURROCK (1974) effectué dans la corne antérieure de la commissure blanche antérieure de la souris est assez pertinent : si la densité cellulaire reste relativement stable au cours du développement, en revanche le nombre total de cellules gliales dans la structure augmente considé-

rablement entre 16 jours postconception et 30 jours postnatal. De plus, dans le corps genouillé latéral (HEUMANN; résultats non publiés), le phénomène se passe également de la même manière.

Ces résultats ne sont pas strictement comparables en raison de la diversité du matériel utilisé, des âges et des structures étudiés, des méthodes d'appréciation, etc., mais ils vont néanmoins tous dans le même sens. Le processus de prolifération gliale est maintenant une réalité bien connue au cours du développement cérébral et cortical et notre étude en apporte une confirmation morphologique quantitative. Il est toutefois intéressant de constater que, d'une part, la prolifération gliale a lieu principalement jusqu'à 30 jours, liée à l'accroissement du volume cortical, et que d'autre part, elle se poursuit après 30 jours, alors que les autres paramètres de maturation, volume, neuropile, densité neuronale, se stabilisent ou régressent légèrement. Ce fait peut être mis en relation avec des phénomènes de plasticité corticale ou de vieillissement (10.4.).

10.4. Dynamique corticale.

La maturation corticale rapide chez la souris commence après la naissance et se poursuit selon nous jusqu'à 30 jours au moins. Elle s'exprime au niveau global par une forte croissance du volume cortical, accompagnée d'une perte de neurones et d'une forte prolifération gliale. Au niveau des différentes aires, elle se caractérise par une augmentation de l'épaisseur accompagnée d'une diminution de densité neuronale et d'un accroissement considérable du neuropile; la vitesse de maturation varie alors selon les couches, plus grande dans les couches II, III et IV que dans les couches I, V et VI.

Le développement du réseau capillaire que nous n'avons pas étudié dans notre matériel joue également un rôle; les études de CRAIGIE (1925) et de CALEY et MAXWELL (1970) chez le rat, ont montré qu'il est très important jusqu'à 20 jours postnatal, puis se stabilise.

Nos résultats concordent dans l'ensemble avec ceux d'autres auteurs ayant étudié le cortex cérébral du rat ou de la souris au niveau morphologique. SUGITA (1918a), le premier, a montré une maturation rapide pour les couches V et III entre 5 et 10 jours, puis plus lente après 10 jours. Par la suite, HADDARA (1956), EAYRS et GOODHEAD (1959), BRIZZEE et JACOBS (1959), ont démontré que la structure du cortex et certains caractères comme l'espace interpérikaryal, le volume cellulaire et le coefficient gris (rapport volume/nombre de neurones) atteignent des valeurs adultes autour de 20 jours postnatal, même si des changements fins peuvent encore se produire après. Avec des études qualitatives au Golgi, MELLER et al. (1968) et FROTSCHER (1975) arrivent à des conclusions analogues.

Notre étude quantitative démontre que si le maximum de développement a effectivement lieu avant 20 jours, des changements significatifs dans la croissance du neuropile prennent encore place entre 20 et 30 jours (fig. 15, 16, 17); ainsi la maturité corticale caractérisée par une certaine stabilité ne se produit en tout cas pas avant 30 jours.

Cette stabilité est du reste toute relative puisqu'après 30 jours de nombreux petits changements ont encore lieu, suggérant une grande plasticité corticale à l'âge adulte. Tout se passe comme si, après avoir passé par un maximum, à 30 jours pour le volume et l'épaisseur du cortex (avec densité neuronale minimale), à 60 jours pour le neuropile, ces processus subissaient une sorte de régression. Cette dernière est difficile à interpréter, mais il se pourrait que de manière analogue au phénomène de surproduction et d'élimination neuronale, l'on assiste à une surproduction de connexions interneuronales avec évolution vers un nombre optimum plutôt que maximum. En accord avec l'hypothèse de DAWKINS (1971), l'élimination sélective de connexions serait alors un possible support des mécanismes mnésiques à l'âge adulte.

Nous ne pouvons cependant pas éliminer la possibilité que l'écorce cérébrale à peine arrivée à "maturité" évolue vers la sénescence*. En effet, DIAMOND et al. (1975) ont montré que

* Ce phénomène est en cours d'étude chez des animaux âgés de 1 à 2 ans.

l'épaisseur corticale chez le rat, croissant de la même manière que dans nos résultats, avec une augmentation très rapide entre 6 et 10 jours et un pic entre 26 et 40 jours, subit à partir de ce moment une diminution qui se prolonge jusqu'à 600 jours. De plus, un phénomène assez semblable à ce que nous trouvons chez nos souris de 180 jours, diminution des épines sur le dendrite apical et plus grande proportion de dendrites de faible diamètre fortement touchés, a été décrit dans le cortex de rats vieillissants par FELDMAN et DOWD (1974). Une réduction de l'épaisseur corticale, accompagnée d'une perte de dendrites basaux et d'épines, a aussi été décrite dans le vieillissement cortical humain par SCHEIBEL et al. (1975). Un certain taux de production gliale jusqu'à 180 jours pourrait également indiquer une tendance à la sénescence puisque nous savons que cette dernière se caractérise entre autres par une importante prolifération gliale, BRIZZEE et al. (1968), VAUGHN (1969), MARES et LODIN (1974) etc. Mais d'autre part, cela pourrait dénoter simplement une amélioration des performances neuronales puisque la glie semble jouer un rôle non seulement dans la nutrition des neurones, mais aussi dans la régulation de leur activité électrique, GALAMBOS (1971).

Les deux hypothèses ne sont du reste pas incompatibles, et hormis la phase de maturation rapide durant les quatre premières semaines de vie, le cortex cérébral de la souris pourrait se caractériser par une dynamique de remaniements à l'âge adulte avec une transition progressive vers les processus de sénescence.

5. Périodes critiques du développement et corrélations fonctionnelles.

Dans notre étude, la maturité corticale est atteinte chez la souris à 30 jours postnatal. C'est en effet à ce moment que se termine la période de forte croissance pour tous les paramètres que nous avons étudiés, avec un maximum de développement au début.

La période entre 5 et 10 jours se caractérise morphologiquement par une très grande diminution de la densité neuronale

ainsi que par l'apparition des épines et d'un neuropile quantifiable. Il s'agit donc d'une transition à la fois quantitative et qualitative. Or ce moment se signale précisément sur le plan fonctionnel par des changements importants chez le rat et la souris : début de l'activité électrique, HIMWICH (1962), KOBAYASHI et al. (1963), DEZA et EIDELBERG (1967), VERLEY et AXELRAD (1975), OLIVERIO et al. (1975); apparition des principaux réflexes stéréotypés, FOX (1965), OLIVERIO (1974) ainsi que d'une forme de mémoire à long terme (24 h.) vers 9-10 jours, NAGY (1972), NAGY et al. (1972).

Ainsi l'apparition de l'activité électrique et de certains comportements peut-elle être mise en relation avec celle des épines dendritiques, principaux sites postsynaptiques, et avec le pic de maturation morphologique entre 5 et 10 jours.

Entre 10 et 21 jours, et plus particulièrement entre 10 et 15 jours, le nombre d'intersections dendritiques et d'épines s'accroît énormément, témoignant d'une intense maturation du neuropile, et la zone de branchement dendritique maximum s'éloigne du corps cellulaire. Sur le plan fonctionnel, nous assistons après 10 jours, d'une part à la maturation de l'électrocorticogramme et des potentiels évoqués, avec atteinte des valeurs adultes autour de la 3ème semaine, HIMWICH (1962), DEZA et EIDELBERG (1967), ROSE (1968), OLIVERIO et al. (1975), et d'autre part à l'amélioration des capacités motrices et sensorielles, FOX (1965), à la maturation des réflexes (avec ouverture des yeux à 13-15 jours), KOBAYASHI et al. (1963), OLIVERIO (1974) et à l'apparition d'une mémoire à plus long terme, NAGY et SANDMANN (1973), NAGY et MURPHY (1974).

La maturation fonctionnelle est généralement terminée pour tous ces auteurs au moment du sevrage (21 jours postnatal). La maturation morphologique corticale n'est terminée pour nous qu'aux environs de 30 jours, car nous avons trouvé encore des changements appréciables dans le neuropile entre 21 et 30 jours. Ces changements sont quantitativement plus fins et il est vraisemblable qu'ils ne se traduisent plus de manière importante au niveau fonctionnel.

Les études du développement biochimique sont également nombreuses, mais les corrélations sont plus difficiles à établir car elles portent très souvent sur le cerveau dans sa totalité. L'accumulation des différents composés, surtout protéiques et lipidiques, se poursuit parfois bien après 20 à 30 jours; néanmoins le pic de maturation a également lieu dans les 3-4 premières semaines postnatales, FOLCH-PI (1955), HIMWICH (1962), DAVISON et al. (1966), FISH et WINICK (1969), ARBOGAST et ARSENIS (1974), CAMPAGNONI et CAMPAGNONI (1976) etc. L'observation d'ARBOGAST et ARSENIS (1974) pourrait cependant être mise en relation avec nos résultats, puisque ces auteurs ont trouvé un pic d'activité enzymatique neuronale dans la substance grise au 17ème jour postnatal, moment très important dans l'établissement des connexions synaptiques.

En résumé, nous trouvons une bonne corrélation entre la maturation morphologique envisagée sous les angles que nous avons étudiés, et la maturation sur les plans neurophysiologique et comportemental; en revanche, la corrélation est moins bonne avec l'aspect biochimique du développement.

La période entre la naissance et le sevrage est, de ce fait, critique pour le développement cortical de la souris. Le point autour de 21 jours représente une charnière, mais la dynamique quantitative se poursuit jusqu'à 30 jours au moins. En conséquence c'est à ce moment-là que l'écorce cérébrale devrait être la plus vulnérable aux influences de l'environnement (avec une sensibilité encore accrue avant 10 jours). Mais nous pouvons admettre une certaine plasticité à un âge considéré comme adulte, puisqu'aucun de nos critères n'atteint une totale stabilité dans la période étudiée, c'est-à-dire jusqu'à 180 jours.

CHAPITRE III

SOUS-NUTRITION POSTNATALE

1. INTRODUCTION.

1.1. Historique.

En 1918 déjà, SUGITA, se référant aux travaux de HATAI (1904; 1908) et de DONALDSON (1911), affirmait que, fait connu depuis longtemps, la sous-alimentation produisait un important retard de développement corporel et cérébral chez l'animal jeune. Lui-même entreprit d'évaluer les conséquences de divers types de carence nutritionnelle chez le rat, et en conclut que le cerveau, bien que relativement épargné par rapport au corps, s'en trouvait gravement affecté dans sa maturation. La notion de période critique du développement n'était cependant pas connue et l'intérêt pour les problèmes de nutrition n'était alors pas d'actualité.

Par la suite, l'hypothèse d'une maturation cérébrale en plusieurs étapes, manifestant alors une vulnérabilité différente aux influences de l'environnement (nutrition comprise), a été émise par de nombreux auteurs, DAVISON et DOBBING (1968), JACOBSON (1970), BEKOFF et FOX (1972) etc. De plus, l'extension importante de la sous-nutrition (et/ou de la malnutrition, cf. chap. IV) dans le monde, a suscité l'attention des chercheurs sur les mécanismes sous-tendant ces phénomènes. Le cerveau est l'objet d'un intérêt particulier depuis que l'on connaît son extrême sensibilité au cours du développement, surtout durant la phase de croissance rapide ("Brain Growth Spurt"). Cette dernière commence au 5-6ème mois de gestation chez l'homme, pour se poursuivre jusqu'à la 3-4ème année, DOBBING et SANDS (1971). Chez la souris (ou le rat), la phase analogue est entièrement postnatale, DAVISON et DOBBING (1968), et nous avons montré (chap. II) que la maturation corticale morphologique se

stabilisait à 30 jours environ, avec un maximum jusqu'à 21 jours.

Le rat et la souris ont ainsi, à raison, souvent été utilisés comme modèles dans des expériences de dénutrition. Au cours de la phase critique du développement cérébral, les résultats d'une période même courte de sous-nutrition ou de malnutrition sont considérables et souvent persistants à l'âge adulte. Des paramètres importants tels que l'âge de l'animal, la durée de la carence, sa nature et sa sévérité, ainsi que le temps de réhabilitation après la fin de la déprivation, jouent un rôle important dans le degré d'altération et d'irréversibilité observé par de nombreux auteurs pour les caractéristiques suivantes :

1) diminution du DNA, du RNA et des protéines, WINICK et NOBLE (1966), HOWARD et GRANOFF (1968), CULLEY et LINEBERGER (1968), HERMANN (1969), FISH et WINICK (1969), CHAZE et al. (1969), SWAIMAN et al. (1970), DOBBING et al. (1971), AHMAD et RAHMAN (1975);

2) désordres lipidiques et troubles ou diminution de la myélinisation, DOBBING (1964), CULLEY et LINEBERGER (1968), HOWARD et GRANOFF (1968), WINICK (1969), FISHMAN et al. (1971), WIGGINS et al. (1974; 1976), KRIGMAN et HOGAN (1976);

3) différences dans l'activité de certaines enzymes, SWAIMAN et al. (1970), ADLARD et DOBBING (1971), SWAIMAN (1972);

4) perturbations de l'électrocorticogramme et des potentiels évoqués, MOUREK et al. (1967), CALLISON et SPENCER (1968), SALAS et CINTRA (1973), CASTELLANO et OLIVERIO (1976);

5) retard de maturation et altération du comportement (émotionnel ou d'apprentissage), EYARS et HORN (1955), BARNES et al. (1966), BAIRD et al. (1971), LEATHWOOD et MAURON (1974), RANDT et al. (1975), CASTELLANO et OLIVERIO (1976), etc.;

6) retard de maturation morphologique (cf. 1.2.).

2. Situation du problème.

La grande majorité des travaux mentionnés (1.1.), qui ne sont

pas des études morphologiques, apportent de nombreuses informations intéressantes sur les effets cérébraux de la sous-nutrition postnatale. Ils présentent cependant l'inconvénient de traiter le cerveau comme un tout, sans tenir compte de son extrême inhomogénéité de structure et de développement, et ne permettent pas de savoir quel pourrait être le degré d'atteinte particulière du cortex cérébral. Le nombre total de cellules (neuronales ou gliales) subit-il des modifications ? Ou bien est-ce surtout le neuropile qui est touché ? Enfin dans quelle mesure les deux phénomènes sont-ils liés ?

Le nombre de cellules a été déterminé surtout par la quantité de DNA cérébral, en vertu du fait que chaque cellule diploïde contient la même quantité de DNA, VENDRELY et VENDRELY (1949). Ces évaluations ont conduit à l'hypothèse qu'une déprivation nutritionnelle durant la période critique postnatale aboutissait à une réduction du nombre de cellules cérébrales, vraisemblablement gliales, puisque la migration neuronale est en principe terminée. Il y a cependant de nombreuses régions à migration et division postnatales comme la corne d'Ammon, le bulbe olfactif, le cervelet, ANGEVINE (1965), ALTMAN et DAS (1966), ALTMAN (1969), SCHLESSINGER et al. (1974), et certains noyaux, comme le noyau cochléaire, MLONYENI (1967).

Le fait de séparer les hémisphères cérébraux du cervelet a déjà amené quelques auteurs à montrer que la part de réduction cellulaire la plus significative était due au cervelet, HOWARD et GRANOFF (1968), CHAZE et al. (1969), DOBBING et al. (1971), mais le problème reste posé pour les différentes structures du télencéphale et en particulier pour l'écorce.

Or l'approche morphologique permet d'observer les éléments en place dans le cortex cérébral. Mieux, avec nos méthodes (chap. I et II), elle permet de quantifier les divers paramètres de la maturation, et d'évaluer ainsi les dommages causés par une carence nutritionnelle, aussi bien dans les différentes couches que dans plusieurs régions de l'écorce. L'étude des densités neuronales et du neuropile nous informera du degré d'atteinte différentielle de la connectivité corticale, tandis que l'esti-

mation du volume et des nombres totaux de cellules nous permettra de savoir s'ils sont véritablement touchés et à quel point.

Au tout début de notre recherche (1972), les travaux portant sur les conséquences morphologiques d'une atteinte nutritionnelle dans le cortex cérébral étaient peu nombreux. A notre connaissance, ressortaient alors les éléments suivants : diminution de l'épaisseur corticale et augmentation de la densité cellulaire en certains endroits, SUGITA (1918b), réduction du nombre de fibres imprégnées à l'argent, EAYRS et HORN (1955), réduction du nombre de synapses par neurone, CRAGG (1972).

Pendant la durée de notre recherche, un certain nombre de travaux sont venus compléter ces informations très fragmentaires : SIASSI et SIASSI (1973) ont fait une étude quantitative portant sur le nombre de neurones et cellules gliales chez le rat, SALAS et al. (1974) ont étudié le nombre de dendrites et d'épines, CORDERO et al. (1976) le développement cellulaire et dendritique de la couche V*.

Les études citées ci-dessus concernent des périodes assez courtes : 50 jours, CRAGG (1972), 21 jours, SIASSI et SIASSI (1973), 13 jours, SALAS et al. (1974), 60 jours, CORDERO et al. (1976). Il en résulte qu'il est difficile de savoir si les effets décrits sont irréversibles. Notre étude, elle, couvre une période de 180 jours, et un temps de réhabilitation ad libitum de plus de 5 mois; nous pensons qu'elle permettra de mieux comprendre les effets à long terme d'une période de sous-nutrition aiguë sur le cortex cérébral.

* D'autres travaux, portant sur les effets d'une carence nutritionnelle commencée avant la naissance, seront envisagés dans le chapitre IV.

2. CROISSANCE DES ANIMAUX.

2.1. Croissance corporelle. (fig. 19 et 21)

Après la naissance, les petits sont laissés avec leur mère jusqu'au soir du 2ème jour (moment où commence la période de sous-nutrition, chap. 1, 3.2.); nous avons remarqué qu'une manipulation trop tôt après la naissance induisait souvent la mère à les dévorer. Les naissances ayant lieu la nuit dans la grande majorité des cas, le matin du jour suivant est compté comme premier jour; il y a donc au plus 12 heures de différence d'âge entre les animaux d'une même série expérimentale.

La croissance des animaux sous-alimentés est extrêmement diminuée, mais l'allure générale de la courbe de croissance est respectée, avec un certain décalage. Les animaux prennent très peu de poids durant la période de sous-nutrition (0-21 jours). A 21 jours leur poids représente seulement le 15% de sa valeur à 180 jours et le 45% de la valeur des témoins du même âge. Durant cette même période la mortalité est extrêmement forte; 50% environ des animaux qui ont commencé l'expérience survivent à 21 jours et les différences de poids d'un animal à l'autre peuvent être importantes. La phase de croissance plus rapide qui s'amorce chez les témoins au sevrage (21 jours) ne commence chez les sous-alimentés qu'à 30 jours, pour se poursuivre jusqu'à 45-50 jours. A 30 jours leur poids est le 25% de sa valeur adulte et le 42% de la valeur des témoins, tandis qu'à 50 jours il est le 73% de sa valeur adulte et le 77% de la valeur témoin. A 180 jours, le poids des animaux carencés représente le 86% de la valeur témoin. A tous les âges, la différence entre témoins et sous-alimentés est très significative ($p < 0{,}001$).

Ainsi, malgré un degré certain de récupération au cours de la période de nutrition *ad libitum*, le poids corporel d'animaux ayant subi une sous-nutrition aiguë pendant les 21 premiers jours de vie ne revient pas à la normale à 180 jours.

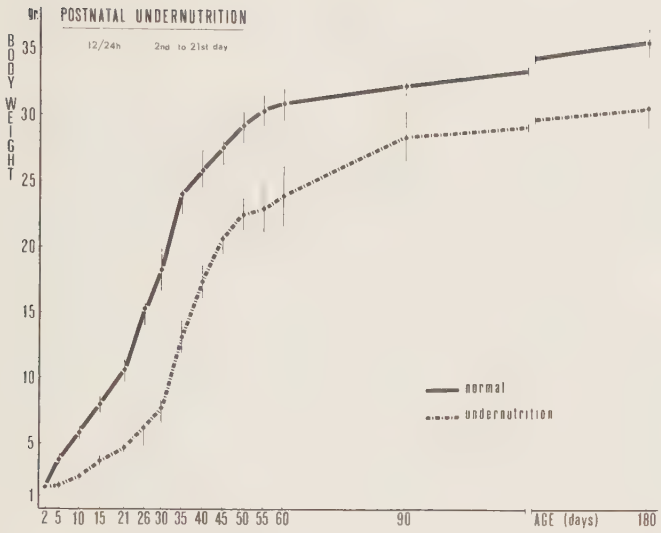


Figure 19 : Poids des animaux normaux et sous-alimentés.

$\bar{X} \pm SD$

La période de sous-nutrition s'étend du 2ème au 21ème jour postnatal et la période de nutrition ad libitum du 21ème au 180ème jour.
Les animaux sont pesés chaque jour durant la période de sous-nutrition, puis tous les 5 jours; pour des exigences de clarté le poids n'a pas été reporté à tous les âges sur le graphique.

La croissance des animaux sous-alimentés est à la fois décalée dans le temps et très nettement inférieure. Le poids normal n'est pas atteint à 180 jours après plus de 5 mois de récupération.

2.2. Comportement.

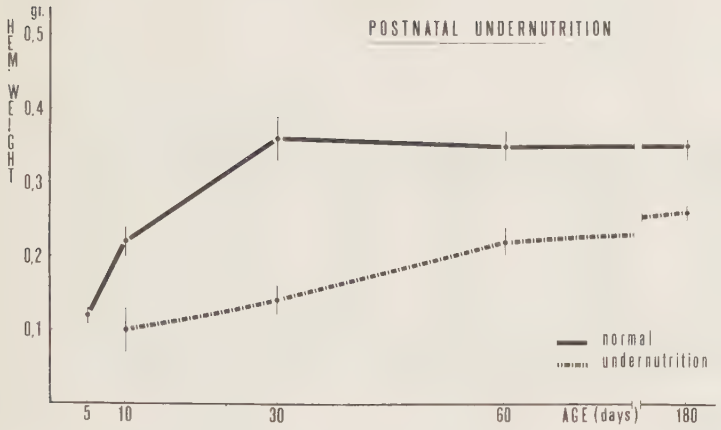
Le comportement des animaux sous-alimentés n'a pas été examiné de manière systématique ni quantifié. On peut cependant faire les observations suivantes :

Chez les témoins l'ouverture des oreilles a lieu à 3 jours environ, l'apparition de la fourrure entre 3 et 5 jours et l'ouverture des yeux à 13-15 jours. Tous ces signes de maturation sont décalés de 2 à 4 jours chez les animaux sous-alimentés. En comparaison avec les animaux normaux, les souriceaux sous-alimentés paraissent amorphes dans la cage, ne courent pas ni n'explorent le territoire. Les plus résistants à la sous-nutrition (poids plus élevé) manifestent une certaine compétitivité pour le lait maternel, tandis que les plus atteints, n'ayant pas la force de se traîner vers la mère, sont abandonnés par cette dernière et meurent en cours d'expérience. Lors de la pesée quotidienne les réactions de peur et d'évitement nous semblent également plus grandes chez les animaux sous-alimentés.

2.3. Croissance cérébrale (fig. 20 et 21).

La croissance des hémisphères cérébraux d'animaux sous-alimentés a été évaluée à 10, 30, 60 et 180 jours par le poids des hémisphères (chap. I, 2.3.).

Ce dernier représente à 5 jours chez les témoins le 34% de sa valeur adulte (30 jours) et à 10 jours le 63%. Chez les sous-alimentés, il représente à 10 jours le 39% de sa valeur adulte et le 45% de la valeur témoin, à 30 jours le 54% de sa valeur adulte et 39% de la valeur témoin, à 60 jours le 85% de sa valeur adulte et le 63% de la valeur témoin. A 180 jours, le poids des hémisphères d'animaux sous-alimentés ne représente toujours que le 74% de la valeur témoin. La croissance se poursuit de manière significative pendant toute la période de réhabilitation pour les animaux carencés, mais sans jamais atteindre les valeurs normales ($p < 0,001$).



gure 20 : Poids des hémisphères cérébraux des animaux normaux (5, 10, 30, 60 et 180 jours) et sous-alimentés (10, 30, 60 et 180 jours). $\bar{X} \pm$ SEM.

La période de déprivation débutant au 2ème jour postnatal, aucun cerveau n'a été prélevé à 5 jours comme dans le cas normal.

La croissance des hémisphères est extrêmement diminuée et l'allure générale du phénomène n'est pas respectée : au lieu d'un pic de développement entre 5 et 30 jours, nous assistons à un processus continu se soldant par un déficit de 26% à 180 jours.

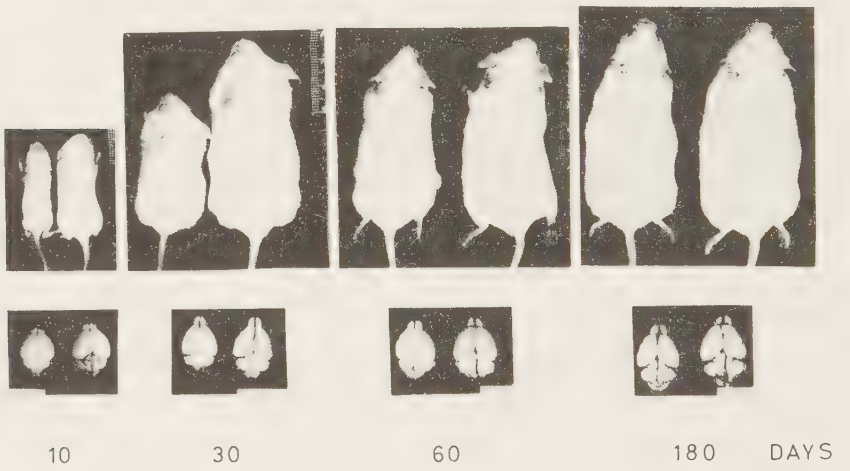


Figure 21 : Effets d'une période de sous-nutrition postnatale (2-21 jours) sur la croissance corporelle et cérébrale des animaux.

Croissance corporelle : à gauche, sous-alimenté
(grossissement ½ X), à droite, témoin.

Croissance cérébrale : à gauche, sous-alimenté
(grossissement 1 X), à droite, témoin.

La différence entre animaux normaux et déprivés est beaucoup plus importante à 10 et 30 jours qu'à 60 et 180 jours.
Cf. texte 2.1. et 2.3.

Si, à 30 jours le poids des hémisphères d'animaux carencés ne représente que le 39% de la valeur témoin, alors qu'il en représentait le 45% à 10 jours, cela provient du fait qu'à 30 jours le poids adulte est atteint dans la croissance normale avec une augmentation de 40% entre 10 et 30 jours, alors que dans la croissance des sous-alimentés l'augmentation entre 10 et 30 jours n'est que de 15%.

DESCRIPTION DES AIRES.

Rappelons que nous avons choisi d'étudier quatre aires corticales ayant des fonctions importantes et suivant la terminologie de KRIEG (1946) (chap. II, 3.1.). Les aires 4 et 10 sont des aires motrices tandis que l'aire 3 est une aire sensorielle réceptrice et l'aire 17 l'aire visuelle réceptrice primaire. De plus, chez le rat et la souris, il pourrait s'agir d'une aire multisensorielle très sensible aux facteurs de l'environnement, GLOBUS et al. (1973).

Nous n'allons pas nous attarder sur la description histologique de ces quatre aires, qui a été faite dans le développement normal (chap. II, 3.2., 3.3.). En effet, nous n'avons pas trouvé dans les cerveaux d'animaux sous-alimentés, de malformation macroscopique, ni dans les aires examinées, de particularité histologique du type cellules en dégénérescence, noyaux pycnotiques ou confusion de couches.

A 10 jours, le degré de développement dans le cortex cérébral des animaux sous-alimentés est très variable d'un cerveau à l'autre, fait à mettre en corrélation avec la diversité d'atteinte corporelle que manifestent ces animaux; il y a là une certaine similitude avec ce que nous avons observé pour les animaux normaux de 5 jours, qui présentaient de grandes différences d'un animal à l'autre. Les 10 cerveaux examinés à 10 jours et provenant de 2 séries expérimentales différentes ont tous une écorce cérébrale beaucoup plus dense que dans le cas normal. Lorsque la densité cellulaire est très élevée (proche de celle

de certains témoins de 5 jours), la délimitation des couches est moins bonne*, et on retrouve certaines caractéristiques immatures, telles que la présence de neuroblastes et de cellules gliales parfois difficilesà identifier, ou un plus grand nombre de nucléoles dans les noyaux cellulaires. La couche périventriculaire des ventricules latéraux est aussi plus épaisse que chez les témoins du même âge.

A 30 jours, les différences entre cerveaux sont beaucoup moins importantes. La seule caractéristique observable déjà sans mesures quantitatives est une densité cellulaire plus élevée à travers tout le cortex cérébral. La lamination corticale dans les aires 10, 4, 3 et 17 est bonne; les critères distinctifs de nos aires sont présents. Dans l'aire 17 : couche IV dense et épaisse, couches V et VI non subdivisées; dans l'aire 3 : couche III dense et épaisse, couche V subdivisée en trois parties, couche VI subdivisée en deux parties avec une couche VIb beaucoup moins dense; dans les aires 4 et 10 : couches III et IV de densité similaire, couche V large et non subdivisée, couche VI subdivisée avec VIb moins dense. La densité générale dans l'aire 10 est moins grande que dans l'aire 4, comme dans le cas normal. Les cellules tangentielles à la limite de la couche VIb et de la substance blanche sont présentes. La couche périventriculaire des ventricules latéraux reste présente mais atteint une épaisseur normale (50-100 microns) (chap. II, 3.3.).

A 60 et 180 jours les cortex d'animaux normaux ou ayant subi une période de sous-nutrition sont impossibles à distinguer les uns des autres sur la base de critères morphologiques, et à ces deux derniers âges, une augmentation de densité cellulaire par rapport aux témoins est difficile à voir sans mesures quantitatives.

* Les problèmes de reconnaissance d'aires et de couches sont les mêmes pour les cerveaux d'animaux sous-alimentés de 10 jours que pour les animaux témoins de 5 jours; ils ont été discutés au chap. I, 6.3.5., et au chap. II, 3.2., 3.3.

4. CYTOARCHITECTONIE QUANTITATIVE.

4.1. Diamètre nucléaire (tab. 11).

Rappelons que les diamètres nucléaires neuronaux ont été mesurés surtout pour leur utilisation dans la correction d'ABERCROMBIE (1946), et que nous n'avons pas fait de test statistique sur ces résultats (chap. II, 4.1.). Nous observons cependant qu'à 10 jours, les valeurs sont inférieures dans les cerveaux d'animaux sous-alimentés, et cela dans toutes les couches et dans toutes les aires (10-20%). La constante de ce déficit nous permet de dire que la croissance nucléaire des neurones est atteinte durant la période de sous-nutrition; ce n'est plus que très partiellement le cas à partir de 30 jours, mais des mesures de surface nucléaire et cellulaire fourniraient des indications plus précises.

En revanche, la distribution dans les couches est conservée : les neurones des couches I, II, III et VI ont un diamètre nucléaire relativement analogue entre eux tandis que ceux de la couche IV ont un noyau plus petit et qu'une partie de ceux de la couche V un noyau plus grand. Il n'y a pas de grande différence entre les aires, et dans toutes, une faible augmentation du diamètre nucléaire a lieu entre 10 et 30 jours avec stabilisation à 60 et 180 jours.

Les cellules gliales ont un diamètre nucléaire identique chez les animaux normaux et sous-alimentés (chap. II, 4.1.).

4.2. Densité cellulaire.

L'étude de cytoarchitectonie quantitative est faite dans les cerveaux d'animaux sous-alimentés à 10, 30, 60 et 180 jours dans les aires 10, 4, 3 et 17, KRIEG (1946). L'examen de quelques cerveaux de 5 jours a révélé une trop grande immaturité, pour que la distinction des aires et des couches soit possible et les comptages reproductibles (comme chez les animaux témoins de 2 jours).

Tableau 11 : Sous-nutrition postnatale : évolution du diamètre nucléaire neuronal (en microns) à 10, 30, 60 et 180 jours, et pourcentage de variation par rapport aux valeurs normales; couches I à VI; aires 10, 4, 3 et 17.

Le diamètre nucléaire des neurones est diminué de 10-20% à 10 jours, puis ne rattrape que très partiellement les valeurs normales.

NUCL. DIAMETER (micra)		10 DAYS		30 DAYS		60 DAYS		180 DAYS	
LAYERS	AREAS	$\bar{X}$	%	$\bar{X}$	%	$\bar{X}$	%	$\bar{X}$	%
I-II-III	10	8,0	- 18	9,1	- 12	9,1	- 10	9,0	- 12
	4	8,3	- 14	9,1	- 12	9,3	- 10	9,0	- 13
	3	8,3	- 12	9,1	- 11	9,1	- 8	8,9	- 12
	17	8,0	- 13	9,1	- 7	9,1	- 7	8,9	- 8
IV	10	7,7	- 9	8,0	- 12	7,7	- 14	7,7	- 14
	4	7,5	- 13	7,6	- 13	7,6	- 12	7,5	- 17
	3	7,5	- 16	8,0	- 6	7,7	- 7	7,5	- 11
	17	7,4	- 12	8,0	- 10	7,5	- 13	7,5	- 16
V (large neur.)	10	12,0	- 7	12,1	- 8	12,0	- 4	11,6	- 8
	4	12,0	- 4	12,0	- 10	12,0	- 10	11,8	- 11
	3	11,7	- 6	12,0	- 8	11,7	- 9	11,6	- 11
	17	10,9	- 7	10,7	- 14	10,7	- 12	10,7	- 14
V (small neur.)	10	8,0	- 8	9,1	- 12	9,1	- 10	9,0	- 12
	4	8,3	- 4	9,1	- 12	9,3	- 10	9,0	- 13
	3	8,3	- 12	9,1	- 11	9,1	- 8	8,9	- 12
	17	8,0	- 13	9,1	- 7	9,1	- 7	8,9	- 8
VI	10	8,5	- 14	9,0	- 12	9,0	- 8	8,8	- 12
	4	8,1	- 15	9,0	- 11	9,1	- 7	8,7	- 12
	3	8,2	- 12	8,8	- 9	9,1	- 6	8,7	- 10
	17	8,4	- 12	9,0	- 8	9,1	- 6	8,8	- 8

4.2.1. Densité neuronale (fig. 22 et 23).

A 10 jours, durant la période de sous-nutrition, toutes les aires étudiées présentent un important retard de développement par rapport aux témoins du même âge. Selon les critères de la cytoarchitectonie quantitative (chap. II, 4.2.) ce retard est exprimé par une densité neuronale plus élevée dans toutes les couches. Nous avons en effet vu au chapitre précédent, que la diminution de la densité neuronale était un bon indice de maturation, corrélé avec la croissance du neuropile et la mort neuronale (chap. II, 9.1.).

Après l'étude du développement quantitatif du cortex normal, on pouvait s'attendre à ce que les couches I, V et VI soient moins atteintes que les couches II, III et IV par une sous-alimentation postnatale, car elles sont à ce moment dans une phase moins rapide de leur évolution (chap. II, 4.2.1.). La densité neuronale est en effet plus élevée par rapport aux témoins dans les couches II, III et IV (100-150%) que dans les couches I, V et VI (50-100%), ce qui signifie pour ces dernières un moindre retard de développement.

Ces résultats portent sur la moyenne de 10 animaux, mais à 10 jours, le retard de développement cortical varie d'un individu à l'autre. Chez un même animal, les couches II, III et IV ont cependant toujours une plus grande densité neuronale par rapport aux témoins que les couches I, V et VI. Les animaux les plus atteints du point de vue poids corporel sont aussi ceux qui ont le plus petit cerveau et le plus grand retard de développement cortical. Bien qu'on ne puisse établir de corrélation exacte entre poids et développement cérébraux d'une part, et poids corporel d'autre part, CLARK et ZAMENHOF (1973), il semble néanmoins qu'à cet âge, le retard de développement d'un animal, représenté par son poids, soit un assez bon indice de son retard de développement cortical.

Entre 10 et 30 jours la densité neuronale décroît beaucoup, et de façon plus marquée pour les couches II, III et IV que pour

les couches I, V et VI; nous retrouvons ici le phénomène observé chez les témoins entre 5 et 10 jours.

A 30 jours, le cortex des animaux nourris ad libitum dès 21 jours, révèle toujours une densité neuronale plus forte que celui des témoins et cela dans toutes les couches et pour les quatre aires étudiées. Il y a cependant déjà un certain degré de récupération car la différence de densité neuronale entre les animaux normaux et carencés est moins grande qu'à 10 jours. De plus, la différence de retard de maturation entre les couches I, V et VI d'une part et II, III et IV d'autre part, n'est plus très nette. Toutes les couches ont une densité neuronale augmentée d'environ 40-70% ($p < 0,001$) ce qui constitue encore un retard important de maturation. A 30 jours chez l'animal normal, la diminution de la densité neuronale est pratiquement terminée et des valeurs assez stables sont atteintes (chap. II, 4.2.1.), tandis que chez les animaux sous-alimentés, le processus se poursuit de manière significative entre 30 et 60 jours, mais non plus entre 60 et 180 jours, où seules quelques différences isolées sont encore significatives. Malgré la prolongation de la maturation dans les couches jusqu'à 60 jours, la densité neuronale reste plus élevée d'environ 20 à 30% ($p < 0,001$) dans le cortex des animaux sous-alimentés et cela non seulement à 60 jours mais aussi à 180 jours.

A partir de 30 jours, la variabilité entre les animaux est moins grande et proche de celle que l'on trouve chez les animaux normaux. Cela est probablement dû au fait suivant : la mortalité au cours de la période de sous-nutrition (2-21 jours) est très élevée, 50% environ, et les animaux choisis au hasard à 10 jours pour le sacrifice n'auraient peut-être pas survécu au-delà, surtout les plus gravement atteints. Entre 10 et 21 jours, un grand nombre d'animaux meurent, tandis qu'à partir de 21 jours et de la nutrition ad libitum, la mortalité tombe à zéro. Les animaux parvenus à 21 jours sont ainsi représentatifs des plus résistants et fournissent un échantillonnage plus homogène que les animaux plus jeunes : ce sont les moins lésés par la sous-nutrition, qui ont aussi le plus de chances de récupérer leur

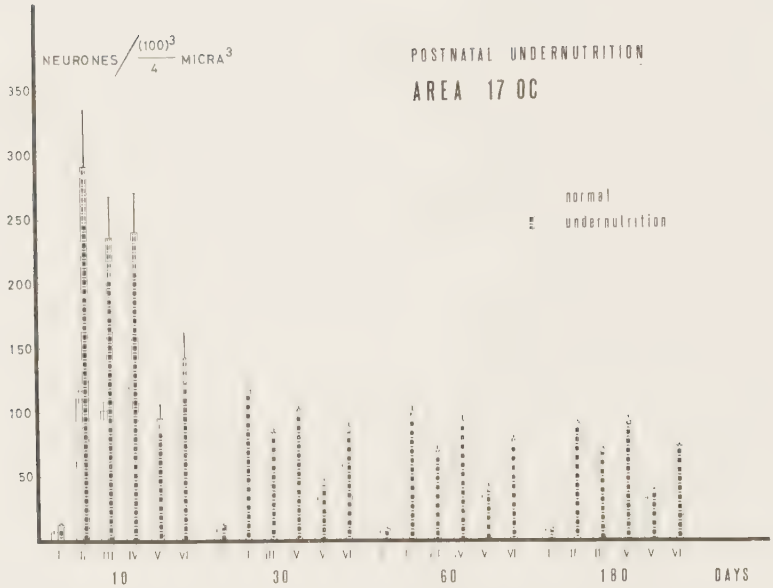


Figure 22 : Sous-nutrition postnatale : augmentation de la densité neuronale dans l'aire 17 (couches I à VI), à 10, 30, 60 et 180 jours, par rapport aux témoins.

$\bar{X} \pm$ SEM

Le nombre de neurones par unité de volume est considérablement plus élevé ($p < 0{,}001$) à 10 jours chez les animaux sous-alimentés et la variabilité est plus grande. Ce fait est plus net dans les couches II, III et IV que dans les couches I, V et VI. A 30, 60 et 180 jours la différence n'est plus aussi importante mais néanmoins persistante ($p < 0{,}001$).

Le phénomène est analogue dans les aires 17, 3, 4 et 10 (cf. fig. 23).

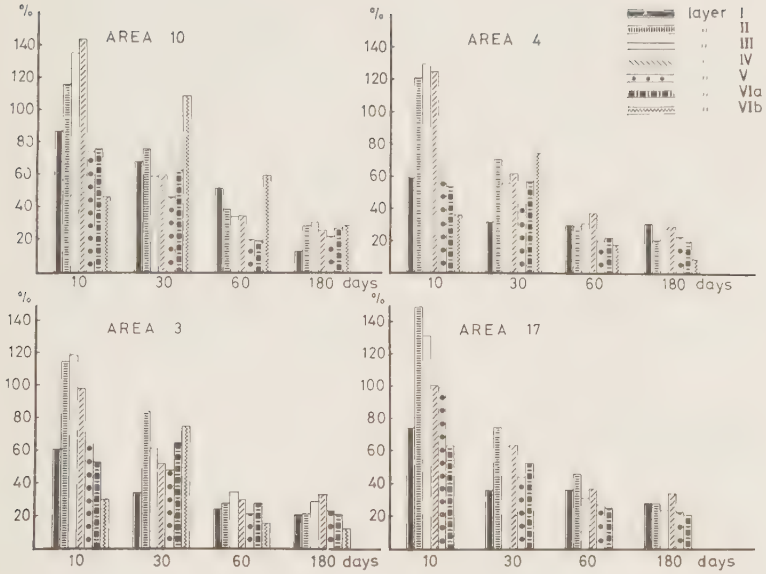


Figure 23 : Sous-nutrition postnatale : augmentation de la densité neuronale dans les couches des aires 10, 4, 3 et 17, à 10, 30, 60 et 180 jours.

Les valeurs sont exprimées en % d'augmentation par rapport à la densité normale. On constate que dans les quatre régions étudiées, c'est à 10 jours que l'augmentation est la plus grande, et que les couches II, III et IV sont plus atteintes que les couches I, V, VIa et VIb. Entre 10 et 180 jours, l'augmentation de densité neuronale décroît mais subsiste de manière significative à 180 jours.

retard de développement. Par conséquent, les échantillons de 30, 60 et 180 jours constituent vraisemblablement les cas de moindre atteinte par la sous-nutrition postnatale. Nos résultats, montrant un retard de développement persistant à 180 jours, après plus de 5 mois de réhabilitation, sont alors d'autant plus significatifs.

Ainsi, le cortex cérébral de la souris manifeste un retard de maturation important lors d'une sous-nutrition aiguë durant les 21 premiers jours de vie, et ce retard n'est pas rattrapé à l'âge de 180 jours : la densité neuronale plus élevée dans toutes les couches de quatre régions différentes, témoigne probablement d'une atteinte du neuropile dans l'écorce.

4.2.2. Densité gliale (tab. 12).

De manière générale le nombre de cellules gliales par unité de volume est à 10 jours un peu moins élevé dans le cortex d'animaux sous-alimentés que dans celui des témoins, mais le phénomène n'est spécifique ni pour une couche, ni pour une aire; dans la couche I, la densité gliale est même plus élevée chez les animaux sous-alimentés.

A 30, 60 et 180 jours, il n'y a pas ou peu de différence significative, parfois une densité gliale un peu plus élevée dans la couche I pour les animaux carencés.

Dans le développement normal, le nombre de cellules gliales par unité de volume est relativement stable, avec une densité un peu plus élevée pour les couches profondes que pour les couches superficielles, couche I exceptée; il présente une légère augmentation à 180 jours dans les couches V et VI (chap. II, 4.2.2.). Le phénomène se passe de la même manière dans le cortex des animaux sous-alimentés; la distribution dans les couches et au cours de l'âge est respectée. Ainsi, la densité gliale semble suivre les mêmes règles que chez les témoins, et aucune tendance bien définie n'a pu être dégagée.

4.2.3. Densité cellulaire dans la substance blanche (tab. 12).

Les résultats sont ici difficiles à interpréter, comme chez les témoins (chap. II, 4.2.3.). Aussi bien les différences d'un âge à l'autre dans le développement des animaux sous-alimentés que les différences entre sous-alimentés et témoins à chaque âge, sont souvent non significatives.

Lorsqu'elles sont significatives, c'est tantôt dans un sens, tantôt dans l'autre et aucune tendance n'a pu être relevée. Ce fait provient vraisemblablement de l'inhomogénéité de la substance blanche et de la difficulté d'y établir des chiffres reproductibles.

Tableau 12 : Sous-nutrition postnatale : densités gliales dans les couches des aires 10, 4, 3 et 17 et dans la substance blanche sous-jacente à chaque aire.

Le degré de significativité par rapport aux témoins est indiqué sur le tableau; on peut également se reporter aux tableaux 3-6 (chap. II) pour les valeurs normales.

*** $p < 0,001$
** $p < 0,01$
* $p < 0,05$
n.s. non significatif.

De manière générale, la densité gliale n'est pas très significativement différente dans le cortex des animaux sous-alimentés.

NUMBER OF GLIAL CELLS IN POSTNATAL UNDERNUTRITION

AS	LAYERS	10 DAYS $\bar{X}$	SEM		30 DAYS $\bar{X}$	SEM		60 DAYS $\bar{X}$	SEM		180 DAYS $\bar{X}$	SEM	
	I	34,4	5,3	**	15,9	1,2	n.s.	14,6	1,0	n.s.	14,8	0,4	***
	II	7,3	0,6	n.s.	6,3	0,5	n.s.	7,1	0,5	n.s.	6,6	0,3	n.s.
	III	6,4	0,3	**	7,4	0,3	n.s.	7,9	0,4	n.s.	7,3	0,2	n.s.
	IV	6,4	0,3	***	7,6	0,3	n.s.	8,5	0,6	n.s.	9,5	0,4	n.s.
	V	6,7	0,4	**	7,9	0,4	n.s.	9,2	0,7	n.s.	10,1	0,4	n.s.
	VI	8,7	0,4	n.s.	8,7	0,3	*	10,2	0,7	n.s.	11,6	0,5	n.s.
	W.M.	66,7	4,3	**	44,6	1,5	n.s.	59,8	2,1	***	60,1	1,4	***
	I	30,6	5,1	*	13,6	0,3	***	12,4	0,8	*	12,0	0,3	n.s.
	II	7,1	0,4	n.s.	7,6	0,2	n.s.	6,7	0,4	n.s.	7,1	0,2	n.s.
	III	7,4	0,4	n.s.	7,6	0,2	n.s.	6,7	0,5	n.s.	7,2	0,2	n.s.
	IV	7,4	0,4	n.s.	8,0	0,4	n.s.	8,5	0,7	n.s.	10,2	0,2	*
	V	7,7	0,3	n.s.	8,9	0,4	n.s.	9,4	0,8	n.s.	11,1	0,4	n.s.
	VIa	7,6	0,2	***	9,5	0,6	n.s.	10,2	0,8	n.s.	11,2	0,4	n.s.
	VIb	11,0	0,3	n.s.	12,2	0,4	n.s.	14,7	0,5	**	15,3	0,4	***
	W.M.	56,9	2,9	*	48,5	2,8	n.s.	53,7	2,0	*	49,7	0,8	*
	I	31,5	5,4	*	14,1	0,5	***	13,3	0,8	**	12,4	0,3	*
	II	7,0	0,4	n.s.	7,1	0,2	n.s.	7,5	0,3	n.s.	7,1	0,2	n.s.
	III	7,2	0,4	*	7,0	0,2	n.s.	7,5	0,5	n.s.	7,6	0,3	n.s.
	IV	7,4	0,3	***	7,6	0,4	n.s.	8,8	0,7	n.s.	9,2	0,4	n.s.
	V	7,8	0,3	*	8,0	0,2	n.s.	9,2	0,7	n.s.	9,8	0,3	n.s.
	VIa	7,7	0,3	*	8,8	0,5	n.s.	10,2	0,8	n.s.	11,2	0,4	n.s.
	VIb	10,6	0,3	**	12,2	0,3	n.s.	15,0	0,7	*	15,0	0,7	*
	W.M.	59,4	4,2	n.s.	48,3	3,3	n.s.	53,8	2,8	n.s.	49,9	0,7	n.s.
	I	28,1	3,8	**	14,2	0,4	***	12,3	0,9	n.s.	12,1	0,2	**
	II	7,9	0,5	n.s.	7,1	0,3	n.s.	6,3	0,3	n.s.	6,8	0,3	*
	III	7,7	0,4	n.s.	6,8	0,1	n.s.	6,5	0,4	n.s.	7,4	0,2	n.s.
	IV	7,6	0,4	n.s.	7,0	0,2	n.s.	8,1	0,6	n.s.	9,0	0,3	n.s.
	V	7,6	0,4	n.s.	7,8	0,3	n.s.	8,9	0,5	n.s.	9,7	0,4	n.s.
	VIa	8,4	0,3	n.s.	8,5	0,3	n.s.	9,9	0,4	n.s.	11,7	0,4	n.s.
	VIb	12,2	0,4	*	11,8	0,4	*	12,9	0,3	n.s.	13,8	0,3	n.s.
	W.M.	60,5	2,0	*	43,2	2,3	n.s.	53,3	0,9	n.s.	55,8	1,1	n.s.

5. MESURE DE L'EPAISSEUR DES COUCHES (tab. 13).

Les épaisseurs dans le cortex d'animaux sous-alimentés représentent comme chez les animaux normaux (chap. II, 5.) des valeurs relatives, raison pour laquelle elles n'ont pas été testées statistiquement. Néanmoins, nous avons fait certaines observations sur nos mesures.

A partir de 30 jours dans les aires 10 et 4, les couches supragranulaires II , III et IV sont moins épaisses (300-400 microns) que les couches infragranulaires V et VI (600-750 microns). Dans l'aire 3, le groupe des couches II,III,IV est assez épais ($\sim$ 400 microns). Dans l'aire 17, les couches supragranulaires et infragranulaires ont des épaisseurs équivalentes ($\sim$ 300 microns). Cette situation ressemble de très près à celle du cortex normal et correspond à ce que nous avons décrit (3.) : sur du matériel coloré au Crésyl violet, il n'y a pas de différence de structure évidente dans le cortex des animaux sous-alimentés, hormis les différences de densité neuronale.

A 10 jours, l'épaisseur des couches dans le cortex des animaux sous-alimentés est généralement inférieure à ce qui est mesuré chez les témoins. Entre 10 et 30 jours, l'évolution de l'épaisseur corticale totale suit celle des couches II,III,IV comme dans le cas normal. Les valeurs mesurées à 30 et 180 jours sont très peu ou pas du tout inférieures* à celles des témoins, et à 60 jours, il n'y a pratiquement aucune différence entre les sous-alimentés et les témoins, car ces derniers manifestent une diminution d'épaisseur (et de volume) à cet âge par rapport à 30 et à 180 jours (chap. II, 5.2.).

* Les épaisseurs mesurées sont même parfois supérieures à celles des témoins, alors que le volume cortical, lui, est toujours inférieur; il semble bien qu'interviennent ici des problèmes techniques car l'aire 10, située à l'endroit de plus forte convexité cérébrale est la plus concernée (chap. I, 7.). Nous préférons alors utiliser le critère du volume pour mesurer le degré d'atteinte corticale lors d'une carence nutritionnelle.

Tableau 13 : Sous-nutrition postnatale : évolution de l'épaisseur (en microns) du cortex total et des couches I à VI, à 10, 30, 60 et 180 jours, dans les aires 10, 4, 3 et 17.

Le pourcentage de variation par rapport aux témoins est indiqué à côté de chaque valeur et montre que, si les épaisseurs mesurées sont généralement inférieures dans le cortex des animaux sous-alimentés, elles peuvent cependant être supérieures ou analogues. Cf. texte 5.

THICKNESS (micra)		10 DAYS		30 DAYS		60 DAYS		180 DAYS	
LAYERS	AREAS	$\overline{X}$	%	$\overline{X}$	%	$\overline{X}$	%	$\overline{X}$	%
I	10	65	- 10	93	- 7	90	- 4	85	- 13
	4	62	- 9	85	- 11	89	+ 1	85	- 11
	3	61	- 9	81	- 13	86	0	78	- 14
	17	49	- 22	73	- 19	72	- 5	68	- 15
II-IV	10	323	+ 7	382	+ 2	327	+ 1	366	+ 9
	4	217	- 23	311	- 9	306	- 2	289	- 6
	3	258	- 23	364	- 11	387	- 3	368	- 12
	17	202	- 23	284	- 10	275	- 2	290	- 6
V	10	341	- 7	393	- 8	367	- 13	398	- 9
	4	273	- 2	270	- 10	273	- 7	280	- 9
	3	277	+ 5	261	- 13	264	0	272	- 7
	17	189	+ 4	163	- 12	158	- 6	170	- 10
VI	10	361	+ 25	370	+ 14	318	+ 1	319	- 1
	4	334	+ 17	336	+ 12	326	+ 11	326	- 1
	3	307	+ 10	313	+ 7	299	+ 1	302	+ 2
	17	169	+ 3	143	0	143	+ 17	150	- 1
Total	10	1089	+ 6	1238	+ 1	1102	- 4	1102	- 8
	4	886	- 3	1002	- 4	993	+ 1	980	- 6
	3	902	- 5	1019	- 7	1035	- 1	1021	- 7
	17	609	- 9	662	- 10	647	0	677	- 7

6. ESTIMATION DU VOLUME CORTICAL (fig. 24).

La croissance du volume cortical des animaux sous-alimentés se poursuit de manière régulière jusqu'à 180 jours, mais elle est beaucoup moins rapide que dans le cas normal jusqu'à 30 jours, et à chaque âge la valeur est inférieure à celle des témoins.

En effet, à 10 jours, le volume cortical des animaux carencés est de 30% plus petit que celui des animaux normaux. Il augmente ensuite jusqu'à 30 jours ($p < 0,001$), mais reste néanmoins environ 30% plus faible, car le volume cortical des témoins a augmenté aussi durant cette période.

Entre 30 et 60 jours, le volume cortical normal diminue légèrement tandis que celui des carencés augmente légèrement ($p < 0,05$), si bien qu'à 60 jours la différence n'est plus significative.

Entre 60 et 180 jours, le volume cortical des carencés n'augmente plus, mais, celui des témoins étant un peu plus élevé à 180 jours qu'à 60 jours, la différence (14%) est à nouveau significative ($p < 0,01$).

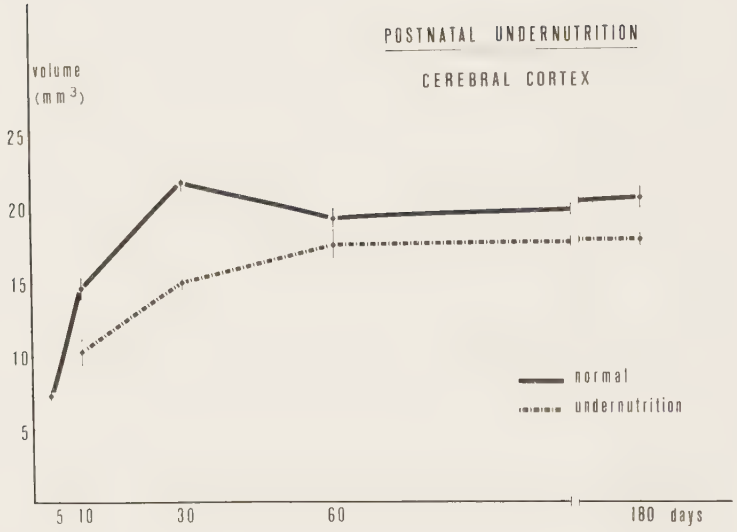


Figure 24 : Sous-nutrition postnatale : évolution du volume cortical à 10, 30, 60 et 180 jours, comparé à celui des témoins.

$\bar{X} \pm$ SEM

La croissance du volume cortical est beaucoup plus lente chez les animaux sous-alimentés que chez les animaux normaux et à 10, 30, et 180 jours, le volume cortical est significativement plus petit.

7. ESTIMATION DU NOMBRE TOTAL DE CELLULES DANS LE VOLUME CORTICAL.

7.1. Echantillonnage cortical.

Nous avons montré dans le cortex cérébral des animaux sous-alimentés, une densité neuronale plus élevée que celle des témoins à tous les âges, une densité gliale similaire, et un volume cortical diminué (4.2.1., 4.2.2., 6.). Nous savons aussi, que lorsque le volume cortical augmente, la densité neuronale diminue, et nous avons observé dans le développement normal, une diminution du nombre total de neurones de 30-40% entre 5 et 30 jours, ainsi qu'une augmentation du nombre de cellules gliales de 50% jusqu'à 30 jours.

Le problème du nombre total de cellules dans le développement cérébral des animaux sous-alimentés a été posé jusqu'ici principalement en termes de quantité de DNA (1.). De nombreux auteurs estiment que la quantité de cellules (sans pouvoir préciser s'il s'agit de neurones ou de cellules gliales et endothéliales) est diminuée après une période de sous-nutrition. Nous avons essayé d'apprécier le nombre total de neurones et de cellules gliales au moyen de leur estimation dans le volume cortical, en utilisant nos échantillonnages de densités cellulaires comme dans le cas normal (chap. II, 7.1.). Cette façon d'aborder le problème fournit des résultats quelque peu différents.

7.2. Nombre total de neurones (fig. 25).

A 10 jours, le nombre total de neurones est plus élevé de 20% ($p < 0{,}001$) dans le cortex des animaux sous-alimentés, par rapport aux témoins du même âge; il représente une valeur plus proche de l'estimation quantitative faite chez les témoins de 5 jours. Entre 10 et 30 jours, ce nombre de neurones diminue d'environ 20%, mais, étant donné que la diminution se poursuit aussi dans le cortex normal, il est à 30 jours toujours plus élevé chez les carencés que chez les témoins (11%).

A partir de 30 jours, dans les deux séries, les variations ne sont plus très importantes. A 180 jours, l'estimation quantitative du nombre de neurones donne une valeur un peu plus élevée

qu'à 30 jours dans le cortex des témoins, et un peu moins élevée qu'à 30 jours dans le cortex des sous-alimentés, si bien que la différence n'est plus significative.

Un certain pourcentage d'erreur peut être dû à la méthode (chap. I, 8.) et les valeurs estimées ne représentent pas la totalité absolue de la population neuronale corticale. Néanmoins, le volume a toujours la même délimitation, ce qui permet la comparaison au cours du développement ou entre les témoins et les sous-alimentés.

Nous pouvons donc conclure que le processus de mort neuronale physiologique est différé dans la maturation corticale des animaux sous-alimentés, et que le nombre total de neurones n'est pas diminué à 180 jours par rapport à celui des témoins.

7.3. Nombre total de cellules gliales (fig. 25).

Contrairement à la relative stabilité de la densité gliale dans le cortex des animaux sous-alimentés et aux différences peu importantes observées par rapport aux témoins, l'estimation quantitative de la population gliale dans le volume cortical indique certaines variations.

En effet, à 10 jours le nombre total de cellules gliales est plus bas dans le cortex des animaux sous-alimentés de 30% environ ($p < 0,001$); comme pour le nombre de neurones, la valeur est proche de celle des témoins de 5 jours. A partir de 10 jours, où elle représente environ la moitié de sa valeur à 180 jours, la population gliale chez les sous-alimentés augmente constamment et de manière significative ($p < 0,001$) jusqu'à 180 jours.

A 30 jours, le nombre de cellules gliales est toujours 30% plus faible que chez les témoins du même âge, mais à 180 jours, il ne l'est plus que de 13% ($p < 0,01$). A 60 jours, en raison d'une valeur basse chez les témoins, la différence de 8% n'est pas significative entre les deux séries.

Nous pouvons donc conclure que la prolifération gliale a bien lieu normalement dans le cortex des animaux sous-alimentés mais que jusqu'à 30 jours les valeurs sont très en-dessous de celles

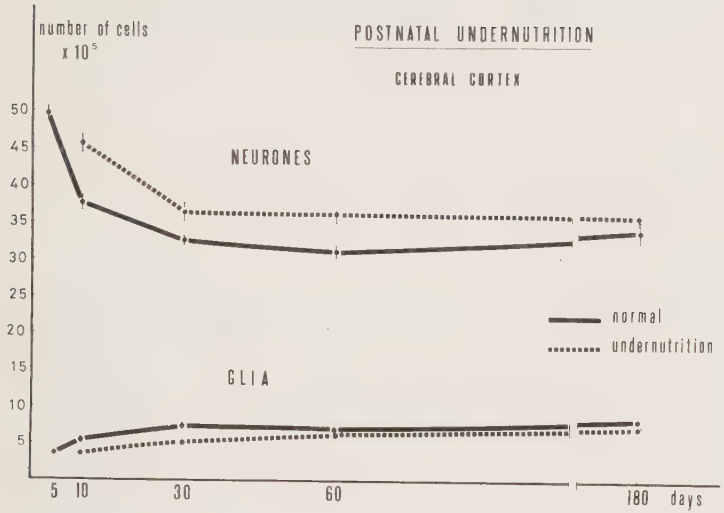


Figure 25 : Sous-nutrition postnatale : évolution des nombres totaux de neurones et de cellules gliales dans le volume cortical, à 10, 30, 60 et 180 jours; comparaison avec les témoins.

$\bar{X} \pm$ SEM

Comme dans le cas normal, on assiste à une certaine perte de neurones au cours de la maturation corticale des animaux sous-alimentés, et à 180 jours le nombre total de neurones n'est pas significativement différent de celui des témoins.

La prolifération gliale est diminuée chez les animaux sous-alimentés, et à 180 jours il subsiste un déficit de 13%.

des témoins (≈ 30%). Dans le développement normal, le maximum de prolifération gliale a lieu entre 5 et 30 jours, alors que chez les carencés le phénomène débute plus tard et se poursuit de manière continue jusqu'à 180 jours, âge auquel subsiste un déficit d'environ 13%.

8. ANALYSE QUANTITATIVE DU NEUROPILE.

8.1. Généralités.

Dans le développement normal, la diminution de la densité neuronale est corrélée avec l'augmentation du neuropile (chap. II, 9.). Une période de sous-nutrition aiguë conduit à une maturation corticale retardée : les valeurs normales de densité neuronale ne sont pas atteintes à 180 jours (4.2.); par contre, le nombre total de neurones n'est pas diminué (7.2.). Il semble donc que l'effet principal de la sous-nutrition postnatale sur le cortex cérébral se fasse sur l'accroissement des connexions interneuronales.

L'atteinte corticale au niveau de la densité neuronale est très semblable dans les aires 17, 3, 4 et 10, mais par contre, au début du développement, les couches I, V et VI sont moins touchées que les couches II, III et IV (4.2.1.).

Nous avons alors choisi, pour représenter le phénomène dans l'étude du neuropile, les couches V et III de l'aire visuelle 17 (âges : 10, 15, 21, 30, 60 et 180 jours).

8.2. Nombre d'épines sur un segment de dendrite apical.

Comme pour le développement normal (chap. II, 8.1.), nous avons compté les épines sur deux catégories de dendrites apicaux, choisis d'après un critère de diamètre, entre 1,6 et 3 microns, ou inférieur ou égal à 1,5 microns. Souvent nous n'avons pu trouver dans le cortex des animaux sous-alimentés des proportions équivalentes de dendrites dans ces deux catégories. Ce fait signifie vraisemblablement que les effets de la carence portent en partie sur la croissance dendritique, surtout dans

la couche III. L'augmentation des épines est également très diminuée dans les couches III et V, tout au long de la période étudiée.

8.2.1. Couche V (fig. 26 et 28).

A tous les âges, les moyennes obtenues sur les dendrites des deux catégories sont significativement différentes ($p < 0,001$); le nombre d'épines est plus grand sur les dendrites de diamètre supérieur à 1,5 microns, de manière analogue au phénomène normal (chap. II, 8.2.1.). Les différences chez les animaux sous-alimentés portent sur le processus de maturation, ainsi que sur le nombre d'épines et la répartition des dendrites à chaque âge*.

A 10 jours, le nombre de dendrites dans les deux catégories (respectivement 72 et 28) est identique chez les animaux normaux et sous-alimentés; mais chez ces derniers le nombre d'épines est extrêmement diminué, plus sur les petits dendrites (85%) que sur les gros (66%). Le nombre de dendrites de diamètre supérieur à 1,5 microns augmente ensuite jusqu'à 60 jours, atteignant alors la proportion trouvée chez les témoins ($\sim$ 50%).

Entre 10 et 15 jours, il y a pour les deux catégories de dendrites apicaux une augmentation du nombre d'épines, mais moins importante que dans le cas normal. Cette augmentation se poursuit de manière significative ($p < 0,001$) jusqu'à 30 jours. Entre 30 et 60 jours, il y a encore une légère augmentation, mais elle n'est plus significative. Entre 60 et 180 jours par contre, on observe une diminution du nombre d'épines sur les deux catégories de dendrites, 14% sur les gros dendrites et 22% sur les petits, phénomène semblable au cas normal (chap. II, 8.2.1.), quoique plus prononcé.

A tous les âges, 10, 15, 21, 30, 60 et 180 jours, le nombre d'épines sur les deux catégories de dendrites est plus petit

* Les populations d'épines durant le développement et à chaque âge, entre animaux témoins et carencés, sont comparées par catégorie de dendrites apicaux, puisque la différence entre catégories est significative, et qu'une des catégories pourrait être plus touchée que l'autre.

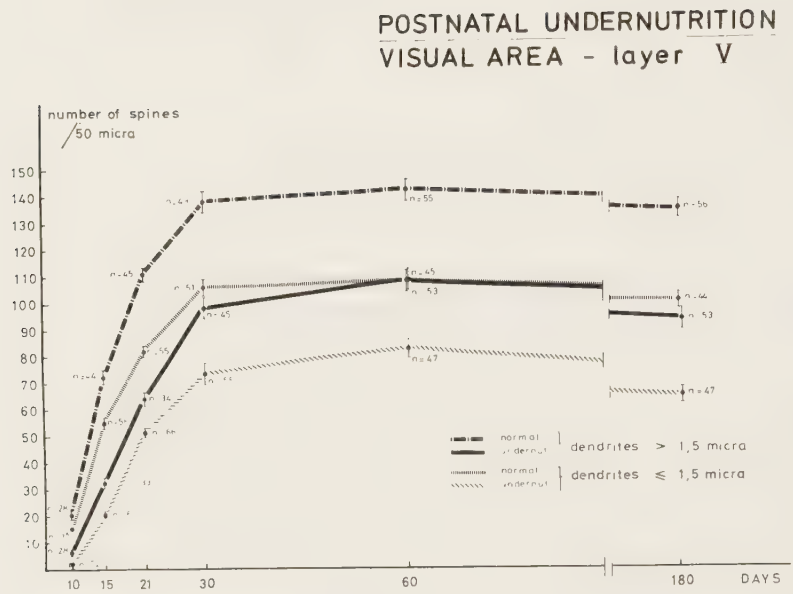


Figure 26 : Sous-nutrition postnatale : nombre d'épines sur le dendrite apical des pyramides de la couche V entre 10 et 180 jours, comparé avec celui des témoins; aire visuelle.

$\overline{X} \pm$ SEM

Le nombre de dendrites que nous avons trouvé dans chaque catégorie de diamètre (jusqu'à 1,5 microns ou entre 1,6 et 3 microns) est indiqué sur le graphique (petits chiffres).

A tous les âges (10, 15, 21, 30, 60 et 180 jours) le nombre d'épines sur les deux catégories de dendrites est significativement inférieur chez les animaux sous-alimentés ($p < 0,001$).

chez les animaux sous-alimentés que chez les témoins ($p < 0,001$). A 10 et 15 jours, les petits dendrites sont plus touchés (85% et 62%) que les gros dendrites (66% et 55%). A partir de 21 jours, il n'y a plus de différence : les deux catégories de dendrites apicaux sont atteintes également. A 21 jours le déficit dans le nombre d'épines est de 36-42%, à 30 jours de 30%, à 60 jours de 23% et à 180 jours de 30-35%.

Un certain degré de récupération a lieu durant la période de nutrition ad libitum, mais le nombre d'épines est moins grand à 180 qu'à 60 jours dans le cortex des animaux sous-alimentés. Nous ne savons pas s'il s'agit d'un processus normal de diminution du nombre d'épines entre 60 et 180 jours, reflétant comme chez les témoins une certaine plasticité corticale, ou d'une plus grande vulnérabilité à la sous-nutrition chez les animaux de 180 jours. Nous reviendrons sur ce problème dans la discussion (10.3.3.).

3.2.2. Couche III (fig. 27 et 28).

A 10 jours, toutes les pyramides ont un dendrite apical inférieur ou égal à 1,5 microns, et il n'y a quasiment pas d'épines sur le segment quantifié, 1 à 3, très souvent aucune. Dans certains cerveaux (4 sur 10), aucune pyramide imprégnée ne montre d'épines.

Entre 10 et 15 jours, le nombre d'épines augmente beaucoup sur les dendrites de diamètre inférieur ou égal à 1,5 microns; nous avons trouvé à 15 jours, 5% de dendrites de diamètre supérieur à 1,5 microns ayant un nombre d'épines plus grand que les dendrites de diamètre plus faible.

Le nombre de dendrites de diamètre supérieur à 1,5 microns augmente au cours du développement, mais alors qu'il atteint environ 50% à 30 et 60 jours chez les témoins, ce n'est jamais le cas chez les carencés. A 60 jours il est de 41%, et à 180 jours de 22% seulement.

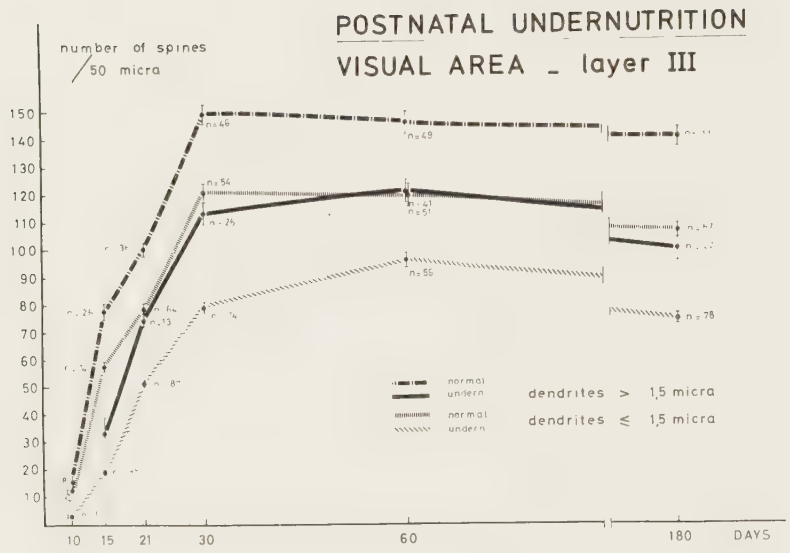
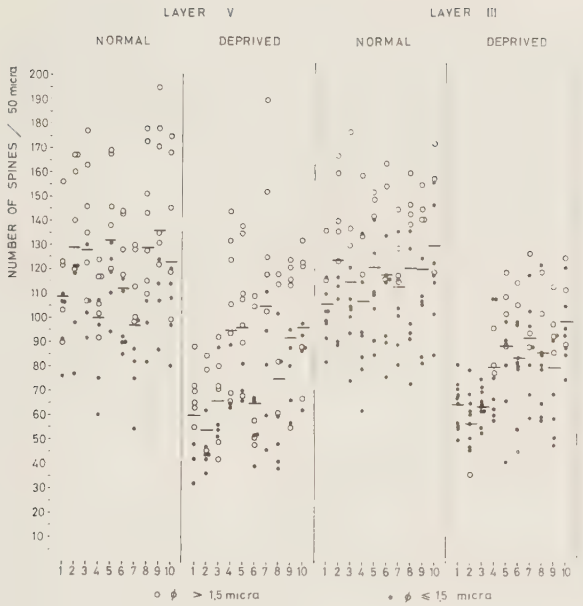


Figure 27 : Sous-nutrition postnatale : nombre d'épines sur le dendrite apical des pyramides de la couche III entre 10 et 180 jours comparé avec celui des témoins; aire visuelle.

$\bar{X} \pm$ SEM

Le nombre de dendrites que nous avons trouvé dans chaque catégorie de diamètre (jusqu'à 1,5 microns ou entre 1,6 et 3 microns) est indiqué sur le graphique (petits chiffres).

A tous les âges (10, 15, 21, 30, 60 et 180 jours) le nombre d'épines sur les deux catégories de dendrites est significativement inférieur ($p < 0,001$) chez les animaux sous-alimentés.



igure 28 : Sous-nutrition postnatale : nombre d'épines sur le dendrite apical des pyramides des couches V et III à 180 jours comparé avec celui des témoins; aire visuelle.

Ce graphique représente les valeurs individuelles comptées sur 10 pyramides, chez 10 animaux différents, et sur les deux catégories de dendrites apicaux; le trait horizontal indique la moyenne pour chaque animal.

On constate que le nuage de points est plus bas dans les deux couches et pour les deux catégories de dendrites.
Dans la couche III, le nombre de points représentant les dendrites de moins de 1,5 microns de diamètre est plus grand chez les animaux sous-alimentés.

Le nombre d'épines sur les dendrites des deux catégories suit la même courbe que dans la couche V, augmentation constante jusqu'à 60 jours, mais significative uniquement jusqu'à 30 jours. A 180 jours, le nombre d'épines est plus bas sur les deux catégories de dendrites, mais la diminution par rapport à 60 jours est plus forte pour les petits dendrites (22%) que pour les plus gros (14%). Comme dans la couche V, à tous les âges, la densité d'épines sur les deux catégories de dendrites est inférieure à celle des témoins, et ce, dans des proportions similaires.

La couche III semble ainsi manifester un retard de maturation plus grand que la couche V, tant au niveau de l'épaississement dendritique que de l'apparition des épines.

8.3. Nombre d'intersections dendritiques.

Le nombre d'intersections dendritiques est estimé de la même manière que pour le développement normal (chap. II, 8.3.) et nous allons voir qu'il y a également au niveau de ce paramètre un retard de maturation. Ce retard est cependant analogue dans les couches V et III dès l'âge de 10 jours. D'autre part, la densité d'intersections dendritiques dans la couche III est inférieure à celle de la couche V, comme chez les témoins.

8.3.1. Couche V (fig. 29).

La croissance du nombre d'intersections dendritiques suit une courbe semblable à celle du développement normal, mais l'augmentation importante se fait surtout jusqu'à 21 jours chez le normal, alors qu'elle se poursuit jusqu'à 30 jours chez le carencé ($p < 0,001$). Entre 30 et 180 jours, on a encore une légère augmentation dans les deux séries. Toutes les valeurs sont plus basses chez les animaux sous-alimentés : à 10 et 15 jours le déficit est d'environ 40%, à 21 jours de 33%, à 30 et 60 jours de 16-18%, et à 180 jours de 12%. Les différences sont toujours significatives, même à 180 jours ($p < 0,001$).

8.3.2. Couche III (fig. 29).

Le phénomène est assez semblable à celui de la couche V : l'augmentation des intersections dendritiques se poursuit jusqu'à 30 jours de manière très significative ($p < 0,001$), puis plus lentement jusqu'à 180 jours. A tous les âges la densité dendritique est plus basse chez les carencés ($p < 0,001$), et ce, dans des proportions égales à celles de la couche V.

.4. Distribution dendritique (fig. 30).

La répartition des dendrites autour du périkaryon dans le cortex des animaux sous-alimentés, montre aussi que la croissance des branchements dendritiques est freinée dans son développement, puisque la zone de branchement maximum s'éloigne moins vite du périkaryon que chez les témoins.

En effet, à 10 jours le maximum d'intersections se trouve chez les sous-alimentés à 18,84 microns du corps cellulaire pour la couche V et à 9,42 microns (correspondant au premier cercle compté) pour la couche III, c'est-à-dire qu'il se trouve plus près du périkaryon que chez les témoins. A 15 jours, le maximum d'intersections est à 18,84 microns pour les deux couches, alors qu'il est à 37,68 microns dans la couche V et à 28,26 microns dans la couche III des témoins. A 21 et à 30 jours, le maximum est à 28,26 microns pour les deux couches, alors que chez les témoins, il est à 47,10 dès 21 jours. A 60 et 180 jours par contre, le nombre maximum d'intersections est à 47,10 comme chez les témoins.

La distance à laquelle on trouve le maximum d'intersections dendritiques s'éloigne du corps cellulaire au cours du développement et représente un indice de maturation du neuropile (chap. II, 8.4.). Le fait que cette distance soit beaucoup plus proche du périkaryon jusqu'à 30 jours chez les animaux sous-alimentés représente donc également un retard de maturation. A l'âge adulte ce phénomène n'est cependant plus significatif.

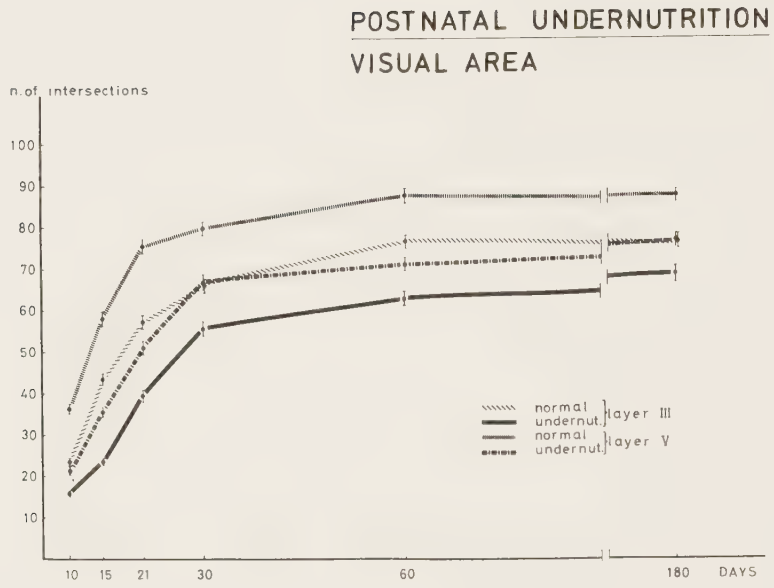
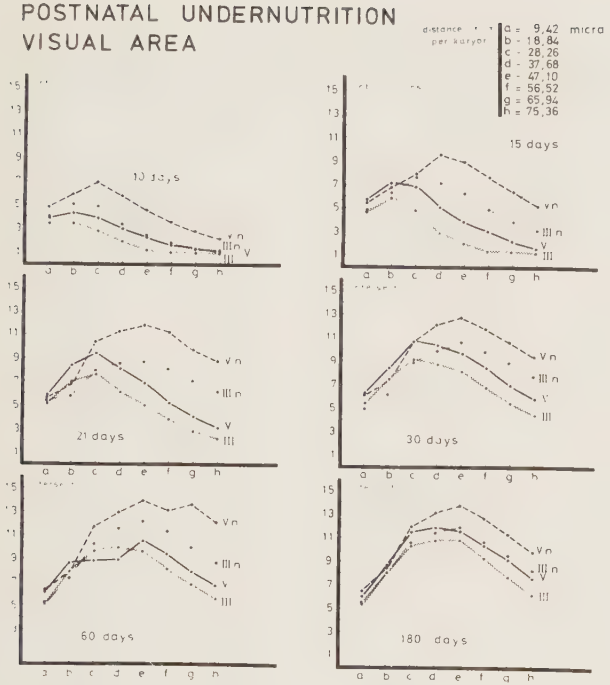


Figure 29 : Sous-nutrition postnatale : nombre total d'intersections dendritiques avec 8 cercles concentriques dans un rayon de 75 microns autour du corps cellulaire, entre 10 et 180 jours; aire visuelle; couches V et III; comparaison avec les témoins.

$\bar{X} \pm$ SEM

La croissance des dendrites se poursuit de manière analogue à celle des témoins, mais à tous les âges le nombre d'intersections dendritiques est significativement inférieur ($p < 0,001$) chez les animaux sous-alimentés.



gure 30 : Sous-alimentation postnatale : distribution des intersections dendritiques en fonction de la distance au périkaryon; aire visuelle, couches V et III; comparaison avec les témoins (Vn et IIIn).

Représentation du nombre moyen d'intersections avec des cercles concentriques d'éloignement croissant (a à h) jusqu'à 75,36 microns du corps cellulaire.

Le retard de maturation dû à la sous-alimentation est indiqué, à la fois par un nombre d'intersections dendritiques inférieur, et par un éloignement beaucoup moins rapide du périkaryon de la zone de branchement maximum.

8.5. Comparaison des couches V et III (fig. 26-30).

Dans le développement normal la couche V manifeste une avance de développement sur la couche III jusqu'à 21 jours (chap. II, 8.5.). Dans la sous-nutrition postnatale, l'étude des densités neuronales révèle une moindre atteinte de la couche V que de la couche III à 10 jours, mais non plus à 30 jours (4.2.1.). L'étude du neuropile exprimée au niveau du développement des épines et des intersections dendritiques ainsi que du calibre des dendrites apicaux, révèle un retard similaire.

En effet, à 10 et 15 jours le nombre d'épines est plus petit dans la couche III que dans la couche V, ce qui n'est plus le cas à l'âge adulte, et la proportion de dendrites de petit diamètre est beaucoup plus élevée dans la couche III.

De plus, à 10 jours, parmi les pyramides imprégnées dans le cortex des animaux sous-alimentés, celles qui ne portent pas d'épines du tout sont plus nombreuses dans la couche III que dans la couche V. A partir de 21 jours cependant, les deux couches manifestent le même degré de déficit dans le nombre d'épines.

Par contre, la densité dendritique, moins grande dans la couche III que dans la couche V, comme dans le cas normal (chap. II, 8.4.), ne montre pas un déficit différent dans ces deux couches; il en va de même de la distribution dendritique.

La couche III est ainsi plus atteinte que la couche V dans le développement du neuropile par une période de sous-nutrition postnatale, mais seulement au début de cette période (10 et 15 jours). Dès la fin de cette période (21 jours), le degré d'atteinte est similaire pour les deux couches, comme si la couche III avait rattrapé son retard sur la couche V. Le phénomène est similaire pour les densités neuronales à 30 jours (4.2.1.).

9. IMPORTANCE RELATIVE DES DIFFERENTS PARAMETRES (tab. 14).

Le développement rapide de l'écorce cérébrale normale se poursuit jusqu'à 30 jours postnatal au moins; il est caractérisé par une forte augmentation du volume cortical (et de l'épaisseur des couches), due en majeure partie à la croissance du neuropile et à la prolifération gliale (et capillaire), de même qu'à l'augmentation de taille nucléaire et cellulaire. Ces faits sont corrélés avec une très grande diminution de densité neuronale, dans laquelle intervient également une perte de neurones de 30% environ (chap. II, 9.).

Tous ces processus, significatifs de la maturation corticale, se produisent également chez les animaux sous-alimentés durant la période de lactation. En effet, la densité neuronale diminue (4.2.1.), le diamètre nucléaire neuronal (4.1.), l'épaisseur des couches (5.) et le volume cortical (6.) augmentent, la mort neuronale (7.1.) et la prolifération gliale (7.2.) ont lieu, et enfin, le nombre d'épines et d'intersections dendritiques croissent*. Tous ces paramètres sont cependant significativement atteints par rapport aux valeurs témoins, et cela à tous les âges étudiés. De plus, leurs pics d'évolution sont légèrement décalés dans le temps : les variations observées entre 5 et 10 jours pour la diminution de densité neuronale et du nombre total de neurones, ainsi que pour l'augmentation du volume cortical, se font entre 10 et 30 jours chez les animaux sous-alimentés, mais de manière moins prononcée. L'accroissement du neuropile (épines et dendrites), très important surtout entre 10 et 15 jours, puis entre 15 et 21 jours chez les témoins, se manifeste entre 15 et 21 jours, et surtout entre 21 et 30 jours, chez les animaux carencés. Entre 30 et 60 jours, l'augmentation est encore significative dans la couche III pour le nombre d'intersections dendritiques et d'épines sur les dendrites de faible diamètre, et la distance à laquelle on trouve la zone de branchement maximum n'est atteinte qu'à 60 jours dans les deux couches. La stabilisation relative des processus de croissance corticale,

* La prolifération capillaire et l'augmentation de taille cellulaire n'ont pas été quantifiées mais paraissent également avoir lieu.

qui se fait à 30 jours dans le cas normal, semble ainsi se présenter à 60 jours après une période de sous-nutrition aiguë durant les premières semaines de vie, chez la souris.

Il est intéressant de constater que, du point de vue de la dynamique corticale, les rapports entre les différents paramètres sont conservés : lorsque le volume augmente, le neuropile et la population gliale s'accroissent, la densité neuronale diminue et un certain pourcentage de neurones meurt. De plus, sans être équivalents, les pourcentages de retard des éléments par rapport aux valeurs normales sont, à un moment donné, dans un ordre de grandeur plus ou moins similaire* (tab. 14) : par exemple à 10 jours, la densité neuronale est plus élevée d'environ 40% dans la couche V et de 50-60% dans la couche III, le nombre d'épines est diminué de 66% et la densité dendritique de 40% dans la couche V, ces valeurs étant respectivement de 85% et 40% pour la couche III. Le volume cortical est plus faible de 30% environ comme le nombre total de cellules gliales, et le nombre total de neurones est de 20% plus élevé. A 30 jours, puis surtout à 60 et à 180 jours, le retard de maturation de ces divers compartiments corticaux s'atténue, mais reste fixé dans les mêmes proportions (tab. 14).

A 180 jours un déficit permanent subsiste pour tous les paramètres sauf pour le nombre total de neurones mais il n'y a plus de différence significative entre les couches : 14% pour le volume cortical, 13% pour le nombre total de cellules gliales, 15-25% pour la densité neuronale, 12% pour les intersections de dendrites et 30-35% pour les épines.

Notons que l'atteinte corticale est plus importante à 180 jours qu'à 60 jours pour certains paramètres, et en particulier pour les épines dendritiques, dont le nombre diminue de 15 à 20% environ entre 60 et 180 jours. Un phénomène du même type se produit également dans le cas normal mais de manière moins prononcée (chap. II, 8.2.), et il est difficile de dire s'il s'agit chez

* Remarquons qu'il est plus facile de comparer une couche dans deux de ses paramètres (densité neuronale, neuropile) que de comparer une couche avec le cortex dans son ensemble (volume, nombres totaux de cellules).

ableau 14 : Atteinte corticale dans la sous-nutrition postnatale : variations (en %) des différents paramètres de maturation par rapport aux valeurs normales, à 10, 15, 21, 30, 60 et 180 jours

- poids des hémisphères cérébraux
- volume cortical
- nombre total de neurones
- nombre total de cellules gliales
- densité neuronale
- nombre d'épines dendritiques
- nombre d'intersections dendritiques.

C'est à 10 jours que les dommages sont les plus importants, mais ils persistent tout au long de la maturation, avec un déficit maximum au niveau des épines dendritiques.

% OF DAMAGE VERSUS CONTROL VALUES IN POSTNATAL UNDERNUTRITION

DAYS	hem. weight	cortical volume	n. of neurons	n. of glial cells	LAYER V neuronal density	LAYER V spines	LAYER V dendritic intersections	neuronal density	spines	dendritic intersections
10	55	30	20	30	38-50	66-85	42	54-5[illegible]	85	33
15	-	-	-	-	-	55-62	39	-	58-67	46
21	-	-	-	-	-	36-42	[illegible]	-	26-35	31
30	50	30	11	30	30-32	28-30	16	36-39	24-35	1[illegible]
60	37	9	5-6	[illegible]	16-21	23	1[illegible]	24-36	17-20	1[illegible]
1[illegible]	26	14	5-6	13	18-19	30-35	12	19-24	30	10

les animaux carencés d'un processus de dynamique corticale ou d'une conséquence de la sous-nutrition. Nous reviendrons sur ce sujet dans la discussion (10.3.3.).

Ainsi, chez la souris, une sous-nutrition aiguë durant la période la plus vulnérable du développement cérébral, conduit à de graves déficits dans le cortex cérébral, lesquels subsistent malgré une certaine récupération après une longue réhabilitation nutritionnelle. Le dommage le plus sérieux se situe au niveau des épines dendritiques, qui représentent, on le sait, des contacts postsynaptiques privilégiés. Les conséquences pour le fonctionnement de l'écorce sont sans nul doute importantes (cf. discussion, 10.).

0. DISCUSSION.

0.1. Considérations générales.

La méthode expérimentale de sous-nutrition que nous avons utilisée, a été discutée et critiquée dans le chapitre I (3.3.). Nous allons donc nous intéresser principalement à ses conséquences pour le développement des animaux et de leur écorce cérébrale, ainsi qu'aux différents liens possibles avec un niveau plus physiologique. Nous devons cependant rappeler que la comparaison avec les résultats d'autres auteurs ou avec d'autres types d'études est souvent rendue difficile par la variation des paramètres en présence.

En effet, le type d'animal et surtout la souche sont très rarement identiques. Or BLIZARD et RANDT (1974) ont montré que deux souches de souris, C57 BL/6J et DBA/2J, réagissaient très différemment à une période de dénutrition, la première ayant un comportement significativement altéré au contraire de la seconde. Il est vrai qu'il faut, nous le verrons plus loin (10.5.3.), considérer avec une certaine prudence les résultats d'études comportementales; mais néanmoins, le génotype pourrait avoir une certaine importance dans la vulnérabilité particulière des animaux à une carence nutritionnelle.

De plus, la méthode de carence postnatale n'est jamais exactement la même, soit parce qu'elle utilise la compétition entre petits au lieu de leur éloignement de la mère, soit parce que le temps d'éloignement est plus ou moins long, soit enfin parce que c'est la mère qui reçoit à partir de la naissance un régime pauvre en calories ou en protéines*.

Si la méthode expérimentale est la même ou presque, c'est alors la durée de la sous-nutrition ou le moment auquel elle intervient qui souvent varie. Or la maturation corticale s'effectue en plusieurs phases avec des pics différents selon les paramètres; la sensibilité peut être spécifique, non seulement suivant la période de développement, mais aussi suivant le paramètre envisagé.

La période de récupération après la carence est également un facteur très important. La plupart des auteurs ont laissé à leurs sujets d'expérience un temps de réhabilitation assez court avant de se prononcer sur l'irréversibilité des effets produits. HOWARD et GRANOFF (1968) ont montré que, si les tests de comportement sont significativement moins bons à 40 jours chez des animaux sous-alimentés entre 0 et 21 jours, à partir de 3 mois en revanche il n'y a plus aucune différence. Il s'agit bien sûr d'une étude comportementale, mais cela démontre qu'il convient d'être critique à l'égard des pronostics d'irréversibilité.

Enfin, diverses combinaisons de tous ces facteurs (type et souche d'animal, méthode de sous-nutrition, durée et période d'intervention, période de réhabilitation) ont été fréquemment utilisées, ce qui rend les comparaisons encore plus malaisées.

C'est donc en essayant de tenir compte de tous ces phénomènes qu'il nous faut analyser nos résultats et les confronter avec d'autres.

* Le régime déséquilibré en protéines chez la mère débute souvent durant la gestation et entre alors dans notre seconde forme de carence (cf. chap. IV).

10.2. Retard général de croissance.

La période de sous-nutrition commence au 2ème jour postnatal et coïncide avec toute la durée de la lactation chez la souris. La croissance des animaux, nous l'avons vu (2.), est fortement perturbée dès le début, aussi bien au niveau du poids corporel et cérébral qu'au niveau du développement en général (ouverture des oreilles, des yeux, etc.).

La croissance corporelle (fig. 19) est à la fois décalée dans le temps et diminuée. Jusqu'à 21 jours, les petits prennent très peu de poids et 50% d'entre eux meurent; il n'y a là rien d'étonnant puisqu'ils sont en pleine période de sous-nutrition. A 21 jours, commence la réhabilitation, mais la croissance rapide ne démarre vraiment qu'à 30 jours et reste toujours en deçà de celle des témoins. Le poids représente donc le premier signe d'un retard de maturation, et il est pour nous un indice de réussite méthodologique. Tous les auteurs cités dans ce chapitre ont relevé un phénomène analogue dans leurs expériences de dénutrition. Il serait inutile de rapporter tous les résultats, car ces derniers dépendent d'une série de paramètres touchant en premier lieu la méthode, puis l'animal, l'âge, etc. (10.1.). Le déficit de poids corporel est chez beaucoup d'auteurs, du même ordre de grandeur que dans nos résultats pour un âge plus ou moins comparable, par exemple 50-70% entre 20 et 30 jours, BASS et al. (1970), CRAGG (1972), DOBBING et SANDS (1971), CORDERO et al. (1976), etc.

Le poids cérébral est également très réduit pendant et après la période de sous-nutrition dans nos résultats (fig. 20), ainsi que chez d'autres auteurs. Les différences entre auteurs sont un peu plus grandes que pour le poids corporel, car à toutes les variables déjà citées, s'ajoute le fait que le cerveau est pesé avec ou sans cervelet et lobes olfactifs, à l'état frais ou fixé,etc. Néanmoins un déficit persistant de 20% environ est généralement constaté et nous trouvons une réduction de 26% à la fin de notre expérience.

Il paraît naturel au fond que la sous-alimentation inhibe le développement corporel et cérébral; le phénomène plus intéressant est l'absence de retour à des valeurs normales pour ces deux caractéristiques, après plus de 5 mois de réhabilitation nutritionnelle, avec un déficit moindre (14%) pour le poids du corps que pour le poids des hémisphères (26%). La phase de croissance rapide du cerveau (o-21 jours) précède celle du corps (21-35 jours) et coïncide avec la période de sous-nutrition aiguë. Cela explique partiellement au moins que les animaux regagnent du poids durant la réhabilitation nutritionnelle qui commence à 21 jours, alors que leur poids cérébral reste très en-dessous de celui des témoins. L'extrême vulnérabilité du cerveau par rapport à d'autres organes constitue un autre facteur permettant de comprendre cette différence de récupération, mieux cernée au niveau cortical (10.3., 10.4.).

10.3. Retard de maturation dans le cortex cérébral.

Le développement de l'écorce est retardé par une période de sous-nutrition postnatale, mais les différents paramètres étudiés sont atteints à des degrés variables. Cela n'est guère étonnant, car ils ont chacun leur dynamique propre, et leur pic de croissance est particulièrement vulnérable aux influences nutritionnelles.

10.3.1. Densitésneuronales et gliales.

La migration neuronale dans l'écorce cérébrale de la souris s'effectue au cours de la deuxième moitié de la gestation; il est difficile de préciser exactement à quel moment commence la structuration des couches et leur maturation cellulaire quantitative, mais avant 5 jours chez l'animal normal, nous n'avons pu distinguer, avec suffisamment d'exactitude pour nos mesures, les différentes couches et régions corticales. L'âge de 5 jours représente une limite expérimentale pour nos méthodes quantitatives (chap. II).

Nous avons fait débuter la période de sous-nutrition au 2ème jour postnatal pour réduire un peu le taux de mortalité d'une carence entreprise dans les heures suivant la naissance. A 5 jours, l'animal sous-alimenté présente déjà un retard de croissance, et son écorce cérébrale un retard de maturation; celui-ci se manifeste par un aspect histologique et une densité cellulaire proches des témoins de 2 jours (estimation qualitative). La limite expérimentale est alors fixée à 10 jours.

A cet âge il existe de fortes variations dans notre collectif d'animaux : ceux qui ont le poids corporel le plus faible ont aussi le plus fort retard de maturation corticale. La densité neuronale est toujours plus élevée que chez les témoins de 10 jours, et même parfois que chez ceux de 5 jours. Cette très forte densité est liée avec une mauvaise structuration des couches et une très faible épaisseur. Les animaux qui ont un retard de croissance moins grand, ont aussi une densité neuronale plus faible dans les couches et une épaisseur corticale plus élevée. Comme l'ont montré CLARK et ZAMENHOF (1973), il semble que malgré la difficulté de corréler le poids du corps avec le poids du cerveau dans son entier, la relation est possible avec le développement de l'écorce cérébrale au moins jusqu'à 10 jours. Le poids de nos animaux sous-alimentés à cet âge est ainsi déjà une indication de leur état de maturation corticale. Chez les animaux normaux, entre 5 et 10 jours, la densité neuronale décroît moins dans les couches I, V et VI que dans les couches II, III et IV, qui sont à ce moment-là dans une phase plus rapide de leur développement (chap. II, 4.2.1.). S'il est vrai qu'au pic d'évolution d'un paramètre correspond une vulnérabilité particulière, les couches II, III et IV doivent alors manifester des dommages plus grands que les couches I, V et VI à 10 jours.
C'est ce que nous observons, puisque dans ces dernières, la

densité neuronale est plus élevée de 50-100%, alors que dans les couches II, III et IV, l'augmentation est de 100-150% (4.2.1.). D'autre part, ces pourcentages sont assez similaires dans les quatre aires étudiées (10, 4, 3 et 17), et ce fait est également en accord avec ce que nous savons du développement normal de l'écorce, où entre les limites expérimentales fixées, il n'y a pas de différence importante d'une aire à l'autre. Selon les critères de la cytoarchitectonie quantitative, la diminution de densité neuronale est un bon indice de maturation corticale corrélée à la fois avec l'accroissement du neuropile et avec une certaine perte de neurones (chap. II, 9.). Nous pouvons en conclure qu'une période de sous-nutrition postnatale doit agir au niveau de ces processus, et qu'à 10 jours, après 8 jours de carence, l'atteinte corticale est déjà très importante. On ne peut toutefois dire qu'aucune maturation ne s'effectue dans le cortex des animaux sous-alimentés : entre 10 et 30 jours la densité neuronale diminue presqu'autant (50% sur la moyenne des couches) que chez les animaux normaux entre 5 et 10 jours (60% sur la moyenne des couches), bien que la période de sous-nutrition se poursuive jusqu'à 21 jours. Il y a donc décalage du processus, mais aussi réduction, puisqu'à 30 jours une densité neuronale plus élevée existe toujours dans toutes les couches et dans les quatre aires étudiées chez les animaux sous-alimentés; les couches II, III et IV semblent avoir rattrapé leur retard sur les couches I, V et VI, et une trop forte densité neuronale est trouvée partout (40-70%), sans qu'une couche ou une aire donnée ne se distingue réellement. Il en va de même à 60 jours, où en dépit d'une prolongation significative de la maturation entre 30 et 60 jours chez les animaux sous-alimentés, il subsiste une augmentation de densité neuronale de 20-30% par rapport aux témoins. A 180 jours, la situation est analogue à celle de 60 jours et la densité neuronale est ainsi plus ou moins stable à partir de 60 jours.

Plus de 5 mois de réhabilitation nutritionnelle ne suffisent donc pas à des animaux sous-alimentés durant les 21 premiers jours de leur existence, pour permettre à leur cortex cérébral de recouvrer une densité neuronale normale, et cela dans les

six couches de quatre régions différentes. Ce fait nous indique que le degré de maturation est très en deçà de celui des témoins, avec un probable déficit du neuropile, mais ne nous dit pas si le nombre total de neurones est touché (10.3.2.). La différence quasi nulle entre les collectifs de 60 et 180 jours nous montre aussi que la récupération doit avoir lieu surtout jusqu'à 60 jours, comme si les potentialités de maturation étaient stoppées au-delà d'un certain moment, malgré une alimentation adéquate. Il y a en effet peu de chances, si la densité neuronale n'a pas retrouvé des valeurs normales entre 2 et 6 mois, que cela puisse se produire après (10.4.).

Notre travail ne constitue pas la première démonstration d'une densité neuronale ou cellulaire plus élevée dans le cortex cérébral d'animaux sous-alimentés. A notre connaissance, c'est cependant la seule tentative d'étude systématique, sur une longue période, dans toutes les couches (I à VIb) de plusieurs régions représentant des fonctions importantes: motrice (aires 10 et 4), sensorielle réceptrice (aire 3), visuelle réceptrice et vraisemblablement multisensorielle (aire 17).

En effet, en 1918 déjà, SUGITA avait montré que la densité neuronale était, selon ses propres termes, considérablement plus élevée (17%) dans les couches III et V du cortex de rats sous-alimentés; une certaine récupération avait lieu mais l'âge des animaux n'allait pas au-delà de 43 jours. Depuis, EAYRS et HORN (1955) ont constaté qualitativement un accroissement de la densité neuronale chez des rats sous-alimentés de 24 jours, et des auteurs tels que CRAGG (1972), SIASSI et SIASSI (1973) ont montré, chez le rat, une densité neuronale plus élevée sur un échantillonnage tenant compte de la totalité de l'écorce mais non de la spécificité de chaque couche. Quant à CORDERO et al. (1976), ils ont fait une étude de la couche V uniquement.

Les méthodes de carence utilisées sont plus ou moins comparables à la nôtre, éloignement de la mère, compétition entre les petits ou combinaison des deux, et s'étendent aussi sur une période de 21 jours environ, sauf pour SIASSI et SIASSI (1973), qui ont fait cesser leur sous-nutrition à 10 jours et l'ont remplacée par une forme de surnutrition jusqu'à 21 jours (3 pe-

tits par mère au lieu de 8 comme chez les témoins). Or on sait, WINICK et NOBLE (1967), qu'une suralimentation durant la lactation produit également des effets cérébraux. Comment donc comparer ces résultats avec les nôtres, d'autant plus qu'aucune de ces études ne va au-delà de 60 jours ?

Nous pouvons tout de même faire les remarques suivantes :

CORDERO et al. (1976) trouvent dans la couche V à 60 jours une augmentation de densité neuronale de 24% environ, en accord avec nos résultats dans la couche V des quatre régions au même âge, où la densité est plus élevée de 19 à 26%. CRAGG (1972) démontre une élévation de la densité neuronale de 22% environ dans le cortex visuel à 24 jours, où nous-même, trouvons une augmentation de 30 à 70% suivant les couches à 30 jours. Le fait qu'il s'agisse du rat s'ajoute aux différences méthodologiques pour expliquer la différence des résultats. De même, l'accroissement de densité neuronale que trouve SUGITA (1918b) à 15 jours (17%), ou SIASSI et SIASSI (1973)à 10 jours (26%) est bien inférieur à ce que nous trouvons à 10jours dans les différentes couches (100-150%). Cela pourrait s'expliquer, partiellement au moins, par le fait que la carence par compétition entre les petits donne à notre avis* des résultats beaucoup moins marquants que leur éloignement de la mère.

Dans l'ensemble, nous l'avons dit, ces études** ne vont pas au-delà de 60 jours et comportent une période de récupération assez courte ou quasi inexistante. Nos résultats sont dès lors d'autant plus intéressants puisqu'ils dénoncent, après 5 mois et 9 jours de réhabilitation, un retard de maturation persistant et généralisé dans l'écorce cérébrale de la souris.

Il nous faut encore signaler les travaux de PLATT et STEWART (1969) chez le chien et d'ESCOBAR (1974) chez le rat, qui sont

* Nous l'avions testée sans succès.

** D'autres travaux, rappelons-le, font débuter la carence avant la naissance et seront envisagés au chapitre IV.

à notre connaissance, les seuls à démontrer (par comptage) une diminution de 20-30% de la densité neuronale corticale après une période de sous-alimentation. Ces résultats sont d'autant plus curieux que généralement la diminution de densité neuronale est associée avec la maturation de l'écorce et non avec un retard de maturation. Il faut probablement incriminer ici la méthode de comptage par projection, dont on sait qu'elle fournit souvent des résultats sous-estimés, KÖNIGSMARK (1970).

La densité gliale ne constitue pas un paramètre très intéressant au cours du développement, puisqu'elle ne subit que des variations peu ou pas significatives (chap. II, 4.2.2.). La situation est la même pour les animaux sous-alimentés, aussi bien dans leur maturation que dans la comparaison avec les témoins (4.2.2.). Très peu d'auteurs ont étudié ce sujet, hormis SIASSI et SIASSI (1973), qui constatent comme nous, une densité gliale non significativement différente dans le cortex de leurs animaux carencés. Les variations du nombre total de cellules gliales peuvent en revanche témoigner d'un retard de maturation cortical (10.3.2.).

10.3.2. Volume cortical et nombres totaux de cellules.

L'une des questions très souvent posées à propos des effets cérébraux de la déprivation nutritionnelle concerne le nombre total de cellules neuronales et gliales. Est-il ou non réduit et dans quelles proportions ?

Probablement en raison du caractère fastidieux des méthodes de comptage cellulaire, ce problème a été principalement abordé par des méthodes biochimiques, où le nombre de cellules est représenté par la quantité de DNA d'un tissu, VENDRELY et VENDRELY (1949). Les dosages, effectués sur le cerveau homogénéisé dans son entier, ont généralement montré qu'une période de sous-nutrition durant la phase de croissance cérébrale rapide conduisait à un déficit cellulaire (rat, souris) : WINICK et NOBLE (1966), HOWARD et GRANOFF (1968), CULLEY et LINEBERGER (1968), HERMANN (1969), FISH et WINICK (1969), CHASE et al. (1969), SWAIMAN (1972), DOBBING et al. (1971), AHMAD et RAHMAN (1975). Ce déficit est situé autour de 20% et tenu par la

plupart des auteurs comme permanent, malgré l'absence d'une période assez longue de réhabilitation.

Il est ordinairement admis par les mêmes auteurs que le DNA cérébral (et donc le nombre de cellules) augmente au cours du développement. Or au niveau du cortex cérébral et d'un grand nombre d'autres structures (chap. II, 10.2., 10.3.), le nombre de cellules gliales augmente, mais le nombre de neurones, au contraire, diminue au cours de la maturation postnatale. Le nombre de cellules endothéliales après la naissance croît aussi, CALEY et MAXWELL (1970), et il existe des régions où la migration neuronale n'est terminée qu'au 20ème jour postnatal, ANGEVINE (1965), ALTMAN et DAS (1966), MLONYENI (1967), SCHLESSINGER et al. (1974), etc. Il est donc difficile de quantifier la part prise par chaque catégorie de cellules à l'intérieur d'une structure donnée, et par chaque structure à l'intérieur du cerveau entier.

On peut alors se poser les questions suivantes : à quel niveau cellulaire se situe le déficit établi par les biochimistes cités plus haut, et surtout existe-t-il des variations en fonction de la région cérébrale envisagée ?

Certains auteurs ont tenté de répondre; après séparation du cerveau et du cervelet, ils ont montré que la perte cellulaire significative était due surtout au cervelet, 20% environ, tandis que celle touchant le cerveau représentait moins de 10%, HOWARD et GRANOFF (1968), CHAZE et al. (1969), DOBBING et al. (1971). Cela n'est pas étonnant puisque l'acquisition neuronale dans le cervelet est loin d'être terminée à la naissance chez le rat ou la souris, ANGEVINE (1965), ALTMAN et DAS (1966), etc. Il n'en reste pas moins que, même à l'intérieur des hémisphères cérébraux on trouve une grande

inhomogénéité de structure et de dynamique de développement (ne serait-ce par exemple que la corne d'Ammon, où l'acquisition neuronale se poursuit aussi jusqu'au 20ème jour postnatal), et que les méthodes biochimiques globales permettent difficilement de savoir ce qui se passe dans le cortex cérébral.

Nous-même avons abordé ce problème par l'estimation quantitative du volume cortical et des nombres totaux de neurones et de cellules gliales. A notre grande surprise, le nombre de neurones dans l'écorce des animaux sous-alimentés n'était nullement diminué par rapport aux témoins, mais au contraire augmenté (7.2.). A 10 jours, en effet, les animaux carencés présentent une densité neuronale fortement accrue mais un volume cortical plus faible de 30%; le nombre total de neurones est alors d'environ 20% plus élevé que chez les témoins du même âge, plus proche de celui des animaux normaux de 5 jours. Ensuite, l'accroissement du volume cortical et la perte d'une certaine quantité de neurones se produisent comme dans la maturation normale, mais à une échelle moindre : le volume cortical est toujours plus petit et le nombre total de neurones légèrement plus élevé que chez les témoins. A 180 jours toutefois, la population neuronale totale n'est plus significativement différente, même si le volume n'a pas tout à fait retrouvé une valeur normale.

Une sous-nutrition aiguë durant la phase de croissance corticale rapide, n'entraîne donc pas une perte de neurones, mais réduit et surtout diffère le taux de mort neuronale physiologique (chap. II, 10.2.) au cours du développement. Puisqu'un plus grand nombre de neurones dans l'écorce est en rapport avec un état de moins bonne maturation corticale, il n'est pas surprenant que ce soit le cas de nos animaux carencés jusqu'à 60 jours. Souvenons-nous de l'hypothèse formulée à propos de la mort neuronale : les neurones n'ayant pas réussi à établir de synapses disparaîtraient au moment de l'établissement principal des connexions avec la périphérie. Or ce moment est différé chez les animaux sous-alimentés, et le nombre de connexions doit être réduit considérablement au début de la maturation corticale.

comme le montre notre étude quantitative des densités neuronales (10.3.1.) et du neuropile (10.3.3.).

Qu'en est-il maintenant du nombre total de cellules gliales ? Le phénomène est ici très simple : puisque la densité gliale n'est généralement pas significativement différente de celle des témoins, et que le volume cortical est toujours plus petit, le nombre total de cellules gliales dans ce volume est aussi plus faible que chez les témoins, le déficit étant évidemment du même ordre de grandeur que celui du volume, soit 30% au début du développement et 13-14% à 180 jours, après une longue période de réhabilitation (7.3.). Une période de sous-nutrition précoce n'empêche donc pas la prolifération gliale caractéristique de la maturation, mais à nouveau, le processus est à la fois différé et réduit.

Il nous faut rappeler que les nombres totaux de cellules ne représentent pas des valeurs absolues mais des estimations quantitatives dans un volume cortical donné (chap. I, 8.4.). Il n'y a cependant pas d'autre façon de procéder que l'échantillonnage cellulaire et la mesure du volume (à moins de compter chaque cellule), et KÖNIGSMARK (1970) a démontré que cette méthode était parfaitement reproductible si l'échantillonnage était suffisamment représentatif de la structure, ce qui est bien le cas dans nos expériences (chap. II, 7.1.).

SUGITA (1918b)avait déjà tenté d'apprécier la quantité totale de cellules dans le cortex de rats sous-alimentés en comptant le nombre de neurones dans une unité de volume (couches V et III), et en évaluant le volume cortical par le calcul : épaisseur corticale X largeur cérébrale X longueur cérébrale. Ces mesures donnaient comme dans nos résultats une valeur légèrement plus élevée que chez les témoins, bien que l'appréciation du volume ait été beaucoup plus grossière, et que l'échantillonnage cellulaire n'ait tenu compte que de deux couches corticales. Bien plus tard, SIASSI et SIASSI (1973) ont repris cette estimation du volume cortical par approximation à un parallélépipède rectangle pour corriger leurs chiffres de densité neuronale. Cela leur a permis de montrer que le nombre de neurones

n'est pas réduit à 10 jours dans la sous-nutrition postnatale, alors que le nombre de cellules gliales l'est d'environ 16%; à 21 jours, la réduction gliale n'est plus que de 4%, mais les animaux de leur expérience ont subi une forme de suralimentation entre 10 et 21 jours (10.3.1.). Récemment, STURROCK et al. (1976) ont aussi démontré une réduction du nombre total de cellules gliales dans la corne antérieure de la commissure antérieure, chez des souris sous-alimentées par compétition.

Il est donc manifeste que le déficit cellulaire produit par la sous-nutrition postnatale est glial et non neuronal.

A propos des rapports entre quantité de DNA et nombre de cellules au cours du développement normal et carencé, on peut citer un dernier travail très intéressant de BASS et al. (1970) : sur l'un des hémisphères cérébraux de rats sous-alimentés par éloignement de la mère, ils ont effectué une étude histologique qualitative dénonçant une élévation de densité neuronale et une réduction des cellules gliales dans l'écorce, tandis que sur l'autre, une série de dosages biochimiques, entre autres, DNA, RNA et protéines; ces dosages corticaux révèlent un phénomène un peu différent de celui démontré par les dosages in toto, et plus proche de nos résultats d'histologie quantitative. En effet, le DNA cortical au cours du développement normal diminue de 77% entre 0 et 10 jours, puis augmente graduellement jusqu'à 50 jours, où sa valeur est tout de même de 20% inférieure à celle de la naissance. Si le DNA cortical représente vraiment le nombre de cellules, il y en a donc moins à 50 jours postnatal qu'à la naissance, malgré l'augmentation entre 10 et 50 jours attribuée aux cellules gliales. Chez les sous-alimentés, le DNA cortical diminue entre la naissance et 20 jours, mais beaucoup moins que dans le cas normal, et il ne subit pas de nouvelle augmentation; sa valeur à 50 jours est de 40% plus basse que celle des témoins et re-

flète un déficit glial d'après les auteurs. Les pourcentages de variation du DNA de BASS et al. (1970) ne correspondent pas vraiment à nos pourcentages de variation cellulaire, mais le processus dans son ensemble a la même allure, et ce fait confirme bien, que ce qui se passe au niveau du télencéphale dans son entier, n'est pas forcément vrai pour chaque structure en particulier.

10.3.3. Neuropile.

Nous avons démontré un retard de maturation important dans le cortex cérébral de nos animaux sous-alimentés. Ce retard est exprimé par une densité neuronale plus élevée dans toutes les couches des aires 10, 4, 3 et 17, au cours du développement et après réhabilitation (10.3.1.). A un niveau plus global, le nombre total de neurones dans l'écorce n'est pas réduit tandis que le volume cortical et le nombre de cellules gliales le sont encore à la fin de l'expérience (10.3.2.). Ce que nous savons des corrélations de la densité neuronale avec le nombre total de neurones et le neuropile durant la maturation, et avec le neuropile uniquement après la phase de croissance rapide, nous permet de déduire que son augmentation reflète certainement une atteinte du neuropile, laquelle n'est pas rattrapée à 180 jours. C'est en effet ce que nous avons observé (8) dans les couches III et V de l'aire 17, localisations choisies comme représentatives de l'écorce et de nos quatre aires, aussi bien dans leur dynamique de développement que dans leur atteinte par la sous-nutrition (8.1.).

Tous les paramètres que nous avons quantifiés, nombre d'épines sur le dendrite apical, diamètre dendritique, nombre d'intersections dendritiques et distribution autour du périkaryon, sont dans leur évolution, caractéristiques de la maturation du neuropile et de la connectivité de l'écorce, et en partie du moins, de son état fonctionnel (cf. chap. II). Or, ils sont tous drastiquement touchés durant la période de sous-nutrition, et durant celle de réhabilitation, les dommages ne sont réparés que dans une certaine mesure.

Au début du développement, le retard est très net : alors que chez les témoins les épines apparaissent à 7-8 jours et sont évidentes et quantifiables à 10 jours, de même que le plexus dendritique, plusieurs cortex d'animaux sous-alimentés n'ont encore à cet âge ni épines ni plexus quantifiable, surtout sur les pyramides de la couche III; pour les autres cortex, seules certaines pyramides présentent ces particularités; de plus dans la couche III il n'y a pas du tout de dendrites apicaux ayant un diamètre supérieur à 1,5 microns. Ainsi, la dynamique de synaptogénèse corticale débute-t-elle plus tard, et à une échelle plus faible chez les animaux sous-alimentés. Le pic de croissance du neuropile est différé et ne s'effectue pas de la même manière que dans le développement normal, entre 10 et 21 jours postnatal; ce fait est relativement compréhensible puisque toute la période correspondant à l'apparition d'un neuropile quantifiable et à son accroissement est celle de la sous-nutrition aiguë. Il faut plutôt s'étonner, que, malgré la carence, se produise entre 10 et 21 jours une augmentation des épines et des intersections dendritiques, ainsi que des dendrites de diamètre supérieur à 1,5 microns, témoignant d'une certaine maturation du neuropile. Cette dernière se poursuit après 21 jours, à une allure plus forte que celle des témoins (laquelle entre alors dans sa phase de ralentissement et de stabilisation) mais ne la rattrape jamais. A 30 jours, le déficit est de 30% environ pour les épines et de 16-18% pour les intersections dendritiques; à 60 jours, il est de 23% environ pour les épines et de 16-18% pour les intersections dendritiques. La distance à laquelle on trouve le maximum de branchements dendritiques représente un paramètre de maturation assez important et n'est atteinte qu'à 60jours, soit 30-40 jours plus tard que chez les témoins.

Dans la littérature, il existe relativement peu de travaux à ce sujet* et surtout ils ne concernent pas des périodes de plus de 60 jours. SALAS et al. (1974) ont montré chez le rat sous-alimenté un déficit du nombre d'épines sur le dendrite apical

* D'autres travaux touchent une carence chez la mère et avant la naissance (cf. chap. IV).

des pyramides de la couche V entre 7 et 15 jours postnatal; ils ont aussi indiqué un retard dans la densité et dans l'épaisseur dendritiques. Leurs résultats ne concordent pas exactement avec les nôtres mais il s'agit du rat et la période de dénutrition de leur expérience commence à 4 jours postnatal seulement. CORDERO et al. (1976) ont étudié le neuropile de la couche V chez des rats de 60 jours, sous-alimentés entre la naissance et 21 jours, et démontré également une diminution du nombre d'intersections dendritiques avec un maximum rapproché du corps cellulaire. Enfin, au niveau de l'ultrastructure corticale, CRAGG (1972) a trouvé une diminution du nombre de synapses par neurone dans la couche V des cortex visuel et moteur après sous-alimentation postnatale.

Nous sommes dans l'ensemble en accord avec les résultats de ces auteurs mais aucun d'eux n'a poussé l'observation au-delà de 60 jours. Or, phénomène curieux, nous trouvons chez nos animaux de 180 jours, un nombre d'épines plus petit qu'à 60 jours, 14% environ pour les dendrites de diamètre supérieur à 1,5 microns et 22% environ pour les dendrites de diamètre inférieur à 1,5 microns. Les souris de 180 jours, dernières de la série (toutes les autres ont été tuées au hasard entre 10 et 60 jours) constituent-elles alors un échantillonnage plus atteint par la sous-nutrition durant la période vulnérable, ou ayant moins bien récupéré ensuite ? Cette hypothèse nous semble peu probable, car l'expérience a été répétée deux fois pour l'obtention des cerveaux traités au Golgi. D'autre part, le nombre d'intersections dendritiques, également témoin de l'état du neuropile, augmente encore entre 60 et 180 jours.

Par contre, nous avons décrit un processus tout à fait analogue chez nos animaux normaux, mais dans une proportion beaucoup moins significative. Les deux hypothèses proposées concernaient la plasticité corticale à l'âge adulte avec perte de synapses non fonctionnelles et/ou une éventuelle transition vers la sénescence (chap. II, 10.4.2.). Qu'en est-il alors chez nos

animaux sous-alimentés ? Ont-ils, à partir de 60 jours, le même type de dynamique corticale que les animaux normaux ? Il n'y a, à priori, aucune raison pour que leur cortex ne manifeste pas une certaine plasticité à l'âge adulte, et qu'en rapport avec l'établissement de connexions sélectives, ils ne perdent pas un certain nombre de synapses (épines). Beaucoup d'auteurs ont décrit une moindre interaction avec l'environnement chez des animaux sous-alimentés (10.5.3.); il se pourrait que cela entraîne une perte accrue d'épines au niveau de l'écorce. Un moins grand nombre de cellules gliales (10.3.2.) parlerait également en faveur d'un état de moindre connectivité fonctionnelle.

Enfin, ne nous situant pas à un niveau d'explication moléculaire, nous ne savons pas si les synapses fabriquées chez les animaux sous-alimentés ne sont pas plus fragiles dans leur constitution et disparaissent alors plus vite.

10.4. Irréversibilité des phénomènes.

Pouvons-nous considérer les conséquences d'une sous-nutrition aiguë sur le cortex cérébral comme irréversibles sur la base de nos résultats ? Bien des auteurs s'y sont risqués, après une période de réhabilitation nutritionnelle beaucoup moins longue que la nôtre. La durée de vie moyenne de notre souche de souris est de 1 an et demi à 2 ans. L'âge de 180 jours représente donc un peu moins d'un tiers de leur existence, et le "diagnostic" d'irréversibilité nous semble délicat à poser. Néanmoins nous pouvons faire un certain nombre de constatations.

L'étude du développement normal a montré que même si la phase de croissance rapide est terminée aux environs de 30 jours, une plasticité certaine continue de se manifester par la suite, à de nombreux niveaux : volume cortical, densité neuronale, nombre total de cellules gliales, neuropile, etc. Entre 60 et 180 jours, des changements ont encore lieu pour ces paramètres (chap. II, 10.4.).

L'écorce des animaux sous-alimentés suit une dynamique de développement un peu différente, puisque les pics de tous les processus étudiés y sont à la fois décalés et plus faibles, et que la phase de croissance rapide se poursuit significativement jusqu'à 60 jours. On peut tenter de résumer la situation en disant que la maturation est non seulement différée mais aussi diminuée. Aucun phénomène n'est cependant supprimé et la biologie fondamentale n'est pas altérée.

L'évolution de certains paramètres entre 60 et 180 jours pourrait nous offrir un argument en faveur d'une maturation prolongée après 60 jours : le volume cortical, la population gliale et les intersections dendritiques continuent de croître faiblement, mais c'est aussi le cas chez les animaux normaux, à une moindre échelle. D'autre part, le nombre d'épines sur le dendrite apical décroît entre 60 et 180 jours et le nombre de dendritesde diamètre inférieur à 1,5 microns est plus grand dans la couche III à 180 jours de manière semblable au phénomène normal. Le nombre total de neurones et la densité neuronale ne subissent plus de variation importante, également comme dans le cas normal.

Tous ces faits nous porteraient ainsi à croire, que la dynamique corticale des animaux sous-alimentés à un âge précoce, subit d'abord un retard sévère au début du développement, puis se poursuit, mais à un degré plus faible, se prolongeant jusqu'à 60 jours environ, enfin, fait preuve d'une forme de plasticité analogue à celle des témoins entre 60 et 180 jours. Il semblerait qu'il n'y ait dès lors qu'une seule opportunité pour le cortex cérébral de croître à des valeurs maximales (entre la naissance et 30 jours), avant d'évoluer plutôt vers des valeurs optimales (à partir de 30 jours). Si les processus ne se produisent pas dans ces laps de temps, ils se font en-dessous de la norme, signifiant que vraisemblablement les mêmes potentialités de croissance n'existent plus à partir d'un certain moment. Il est très probable alors que les valeurs optimales ne seront jamais rattrapées si les potentialités sont perdues.

Ainsi, à défaut de nous prononcer sur une irréversibilité totale des phénomènes (par manque de contrôle expérimental au-delà de 180jours), nous pouvons tout de même dire que l'état cortical de nos animaux sous-alimentés de 180 jours a de fortes chances de représenter l'optimum qu'ils aient pu tirer de leurs conditions de croissance.

L'hypothèse de potentialités maximales à un moment donné du développement a été soutenue par DOBBING et SANDS (1971) au niveau des processus biochimiques dans le cerveau entier. Il pourrait donc s'agir d'un phénomène dépassant le cadre de l'écorce cérébrale.

0.5. Corrélations fonctionnelles.

L'une des critiques que l'on pourrait faire à notre travail est de rester à un niveau purement histologique (quantitatif) et de ne s'attaquer, ni aux mécanismes fondamentaux par lesquels la sous-alimentation agit sur le cortex cérébral, ni à la physiologie du phénomène. En fait, c'est volontairement que nous avons restreint notre étude à des paramètres histologiques, et leur comparaison nous a permis de cerner assez bien les effets d'une période de sous-nutrition précoce sur l'écorce cérébrale. Cette dernière n'est pas un tissu comme les autres et son organisation anatomique et histologique (disposition en couches, structuration des "patterns" de connexions, quantité des différents éléments qui la composent et relations entre eux, etc.) est primordiale pour un fonctionnement adéquat, autant en tout cas, que le taux des composés biochimiques ou l'activité électrique. Toutes ces caractéristiques sont du reste liées au cours du développement (chap. II, 10.5.) et leurs variations le restent lors d'une atteinte nutritionnelle. Le comportement, "extériorisation" des fonctions cérébrales, est une variable plus difficile à analyser et ne dépend pas que du cortex; il est néanmoins souvent différent du cas "normal" après une période de sous-nutrition.

Toutes les corrélations que nous pouvons faire sont donc empruntées à différents auteurs, et, comme telles, doivent être consi-

dérées avec la prudence qui s'impose lorsque les paramètres ne sont pas identiques (10.1.).

10.5.1. Corrélations biochimiques.

Nous avons déjà soulevé et discuté le problème des relations entre nombre de cellules et quantité de DNA (10.3.2.). Le DNA constitue en fait le principal élément dosé dans les études biochimiques de la dénutrition, avec il est vrai, le RNA et les protéines qui sont censés refléter la taille cellulaire. Ces deux derniers composés sont fortement réduits d'après de nombreux auteurs, mais retrouvent souvent des valeurs normales au cours de la phase de réhabilitation : WINICK et NOBLE (1966), CULLEY et LINEBERGER (1968), FISH et WINICK (1969), HERMANN (1969), CHASE et al. (1969), AHMAD et RAHMAN (1975). On peut faire à ce sujet les mêmes remarques que pour le DNA et des chiffres concernant le cerveau total ne sauraient s'appliquer absolument à l'écorce. Nous n'avons pas mesuré la taille cellulaire mais seulement le diamètre nucléaire, effectivement diminué de 10-20% par rapport aux témoins, ce qui est difficile à corréler précisément avec une perte de RNA ou de protéines.

RNA et protéines sont aussi nécessaires à la construction du réseau dendritique et des épines; leur manque pourrait en entraver la croissance, correspondant à ce que nous avons observé (10.3.3.). Le travail de BASS et al. (1970) démontre également une réduction du RNA et des protéines, ainsi que des gangangliosides dont la concentration est généralement corrélée avec l'activité synaptique et neuronale, diminuée chez les animaux sous-alimentés.

Une dernière corrélation intéressante à propos du DNA est celle que nous pouvons faire sur la base du travail de PENN (1976). Cet auteur démontre que l'augmentation normale de 5-hydroxyméthylcytosine ne se fait pas dans la maturation cérébrale de rats carencés, signifiant une atteinte du site d'action pour la modulation synaptique. Les supports synaptiques (épines, dendrites) sont effectivement atteints (10.3.3.) et il est possi-

ble que, outre le manque de protéines pour la synaptogénèse, la régulation fasse défaut au niveau du DNA.

Des changements pendant ou après une période de carence nutritionnelle postnatale ont également été signalés au niveau des acides aminés, MOUREK et al. (1970), d'un certain nombre d'enzymes, SWAIMAN et al. (1970), SWAIMAN (1972), RAJALAKSHMI et al. (1974), ainsi qu'au niveau des transmetteurs et enzymes associées, SOBOTKA et al. (1974), AHMAD et RAHMAN (1975), ECKHERT et al. (1976). Ce n'est pas toujours une diminution mais parfois une légère augmentation. Si nous empruntons quelques informations à un travail concernant une malnutrition débutant avant la naissance (cf. chap. IV), ADLARD et DOBBING (1972), l'activité de l'acétylcholinestérase serait plus grande dans des cerveaux de rats carencés, par gramme de poids frais, mais non in toto. Nous ne sommes pas qualifiée pour discuter ces résultats, mais selon les auteurs, il pourrait s'agir d'une relative épargne des terminaisons synaptiques chez les animaux dénutris. Nous ne savons pas comment corréler cette hypothèse avec nos résultats.

Enfin, tout un grand chapitre des études biochimiques de la dénutrition se rapporte à la myéline et à ses composés. Sans nous attarder sur ce sujet, on peut cependant dire que la myélinisation semble généralement très atteinte par une carence nutritionnelle, aussi bien dans l'accumulation totale des composés que dans la maturation qualitative protido-lipidique, DOBBING (1964), FISHMAN et al. (1971), WIGGINS et al. (1974; 1976), KRIGMAN et HOGAN (1976).

0.5.2. Activité électrique.

Nous avons vu (chap. II, 10.5.) que la maturation de l'activité électrique EEG, ECoG, potentiels évoqués, se produisait normalement au même moment (avant 20 jours postnatal) que le pic de croissance corticale (densités neuronales et neuropile). On peut raisonnablement supposer que le retard de maturation de ces éléments va retentir sur une activité électrique dont

ils constituent, partiellement au moins, le support. De plus, les cellules gliales semblent agir, GALAMBOS (1971), au niveau de la régulation fine des compartiments sodium et potassium, et leur déficit pourrait aussi avoir une action sur ces paramètres. En effet, plusieurs auteurs ont démontré que la sous-nutrition postnatale produit des modifications dans l'une ou l'autre des caractéristiques électriques cérébrales.

Pour MOUREK et al. (1967), des rats sous-alimentés (seulement à partir de 5-10 jours) manifestent une augmentation du temps de latence dans les potentiels évoqués visuels et auditifs, cette latence persistant encore 35 jours après la fin de la déprivation; de plus la capacité de répondre à une stimulation répétitive est diminuée et des caractéristiques immatures dans l'EEG, telles que vagues lentes et activité discontinue subsistent également très longtemps. Ces dommages, et particulièrement l'impossibilité de répondre à une stimulation répétitive, peuvent très bien être dus à un manque de synapses susceptibles de se relayer, corroborant ainsi nos estimations quantitatives du neuropile.

CALLISON et SPENCER (1968) obtiennent des résultats analogues, avec une bien meilleure récupération à l'âge adulte; mais leur expérience de dénutrition ne dure que du 5ème au 12ème jour postnatal et la réhabilitation commence donc au milieu du pic de croissance du neuropile. Dernièrement, CASTELLANO et OLIVERIO (1976) ont également rapporté un délai dans l'apparition de la maturation de l'activité électrique.

Par ailleurs, SALAS et CINTRA (1973) ont constaté un allongement de la latence des potentiels évoqués à partir du nerf sciatique, ainsi que des réponses secondaires moins nombreuses et plus faibles, indiquant pour ces auteurs que c'est au niveau des afférences thalamiques, spécifiques et non spécifiques, que la maturation ne se fait pas. Nous n'avons pas étudié les systèmes d'afférences mais bien le corps genouillé latéral, relais visuel, chez nos animaux sous-alimentés (résultats non publiés). Or nous avons effectivement trouvé les mêmes modifications que dans le cortex, c'est-à-dire augmentation de

la densité neuronale signifiant une réduction du neuropile et diminution du volume et de la population gliale. Il est donc manifeste que l'écorce n'est pas la seule région cérébrale touchée par la sous-alimentation et que son atteinte n'exclut pas des dommages à un autre niveau.

.5.3. Comportement.

Disons d'emblée que le comportement des animaux sous-alimentés est un paramètre extrêmement difficile à analyser, parce qu'interviennent en plus des variables déjà mentionnées (10.1.), des paramètres tels que le test et la récompense utilisés; cette dernière est souvent attribuée sous forme de nourriture, envers laquelle des animaux carencés à un âge précoce peuvent avoir une motivation différente de celle d'animaux bien nourris, WONG (1973).

Il faut prendre également en considération, nous l'avons vu au chapitre I (3.3.), la déprivation sociale et maternelle que subissent les petits sous-alimentés, SLOB et al. (1973), CRNIC (1976), et le stress quotidien de manipulation, LYNCH (1976).

Les données rapportées par les nombreux auteurs qui ont testé le comportement d'animaux (rats ou souris) au cours d'une période de sous-alimentation ou après, sont souvent contradictoires; parfois, dans le même travail, certains tests donnent pour les animaux carencés des scores meilleurs et d'autres de moins bons. De la masse des résultats nous pouvons tenter d'extraire quelques caractéristiques générales.

La maturation des réflexes (ouverture des yeux et des oreilles, placement des membres et des vibrisses, etc.) est différée mais s'effectue cependant à un âge plus tardif, EAYRS et HORN (1955). SMART et DOBBING (1971), CASTELLANO et OLIVERIO (1976), etc.

Dans les tests d'apprentissage (labyrinthe, boîte de Skinner, etc.) les animaux sous-alimentés réussissent généralement moins bien. Ils présentent souvent une sorte d'hyperactivité, une interaction moins grande avec l'environnement et un degré d'émo-

tivité plus élevé : BARNES et al. (1966), SMART et DOBBING (1971), BAIRD et al. (1971), SMART et al. (1973), HANSON et SIMONSON (1971), CHOW (1974), LEATHWOOD et MAURON (1974), etc.

Nombreux sont les auteurs qui accordent un rôle prépondérant à une émotivité accrue des petits rats, pouvant agir sur leurs performances et leur capacité de répondre à un test. LEVITSKY et BARNES (1971) ont fait une étude comparative malnutrition postnatale/isolement social et ont montré que ce facteur potentialise considérablement les effets de la malnutrition, même si celle-ci change physiologiquement la perception de l'environnement. Lorsque les deux facteurs sont séparés par une méthode appropriée, l'isolement social a un effet plus grand que la malnutrition seule sur le comportement ultérieur des animaux, ainsi que l'a également montré FRANKOVA (1974). Ce type d'hypothèses est soutenu par certaines études pharmacologiques, montrant que des substances comme la pyridoxine, les amphétamines ou le chlordiazepoxide (tranquillisant mineur) agissent en améliorant notoirement les performances d'animaux sous-alimentés, FRANKOVA (1974), SIMPSON (1974), LEATHWOOD et al. (1975), TIKAL et al. (1976).

Nous savons pourtant que l'apprentissage dépend d'une capacité de mémoire normale, laquelle dépend à son tour du réseau synaptique et de la synthèse protéique entre autres (le cortex n'étant pas la seule structure impliquée). Or le réseau synaptique (neuropile) est gravement atteint par la sous-nutrition, et de nombreux travaux (10.5.1.) ont montré que la synthèse protéique l'est aussi. De plus, l'administration d'un inhibiteur de la synthèse protéique (cycloheximide) est connue pour entraver la capacité d'apprentissage, SQUIRE et BARONDES (1973), et l'apprentissage discriminatif clair/obscur chez des rats carencés n'entraîne d'augmentation protéique ni dans le cortex visuel ni dans l'hippocampe, mais uniquement dans le cortex sensori-moteur, HYDEN et LANGE (1975).

Ainsi, s'il est vraisemblable que la composante émotionnelle ait une part dans le comportement des animaux sous-alimentés,

affirmer qu'elle est plus importante que la composante nutritionnelle nous semble témoigner d'une méconnaissance des désordres réels à un niveau plus structurel. Il nous est cependant impossible d'analyser mieux le phénomène, car le passage d'un niveau (organisation corticale) à un autre (comportement) est complexe, d'autant plus que d'autres structures que le cortex cérébral, le système limbique surtout, jouent alors un rôle prépondérant.

CHAPITRE IV

MALNUTRITION PROTEIQUE MATERNELLE

1. INTRODUCTION.

1.1. Historique.

L'histoire de la malnutrition et des recherches dans ce domaine est difficile à distinguer vraiment de celle de la sous-nutrition. Théoriquement la malnutrition reflète une déficience en un nutriment précis, le plus souvent protéique, accompagnée des désordres métaboliques liés à une carence spécifique. Dans la pratique et chez l'humain, sous-nutrition et malnutrition sont souvent confondues à des degrés divers chez les mêmes sujets, et les chercheurs parlent plus volontiers de déficience protéino-calorique ("protein-calorie malnutrition"; LATHAM, 1974). De plus, lors de la croissance, les protéines représentent l'élément essentiel et leur déficit dans la sous-alimentation est primordial (chap. I, 3.6.). Un certain nombre d'enfants, parmi ceux souffrant de dénutrition dans leur jeune âge, ont déjà été mis au monde par des mères vivant dans un état de malnutrition (et/ou de sous-nutrition) chronique, et il est important de savoir si leur développement cérébral et cortical en est affecté. C'est la raison pour laquelle de nombreux auteurs se sont penchés sur les conséquences d'une déprivation maternelle expérimentale durant la gestation, en examinant à la naissance et dans la suite de la maturation, des paramètres analogues à ceux étudiés dans la sous-nutrition post-natale* :

1) DNA, RNA, protéines, ZAMENHOF et al. (1968), ZEMAN et STANBROUGH (1969), PATEL et al. (1973), AHMAD et RAHMAN (1975);

* Le rat et la souris sont à nouveau les modèles généralement utilisés.

2) activité des neurotransmetteurs et enzymes associées, SHRADER et ZEMAN (1969), ADLARD et DOBBING (1971; 1972), GAMBETTI et al. (1972), SHOEMAKER et WURTMAN (1973), ECKHERT et al. (1976), SMART et al. (1976);

3) activité électro-physiologique, FORBES et al. (1975), GRAMSBERGEN (1976);

4) comportement et apprentissage, CALDWELL et CHURCHILL (1967), BAIRD et al. (1971), HANSON et SIMONSON (1971), CHOW (1974), RANDT et DERBY (1973), MASSARO et al. (1974), SMART et DOBBING (1971), SMART (1974), SMART et al. (1973; 1975; 1976), etc.;

5) dans le domaine morphologique, structure et dimensions cérébrales, CLARK et al. (1973), STEWART et al. (1974), populations neuronales et gliales, SIASSI et SIASSI (1973), synapses et connexions, GAMBETTI et al. (1974), WEST et KEMPER (1976), ultrastructure synaptique, JOHNSON et YOESLE (1975), JONES et DYSON (1976), DYSON et JONES (1976), CRAVIOTO et al. (1976).

En fait, seules quelques-unes de ces expériences de sous-nutrition ou de malnutrition maternelle portent uniquement sur la période de gestation. La plupart d'entre elles se poursuivent après la naissance, les mères carencées allaitant elles-mêmes leurs petits. Ce fait ainsi que les différences existant dans les méthodes de carence maternelle (déficience protéique, calorique ou les deux), rendent la comparaison des résultats malaisée (cf. discussion, 10.). Quelques auteurs cependant, ayant étudié différentes combinaisons de déprivation, gestation seule, lactation seule, ou gestation et lactation, ont montré que les effets les plus graves se produisent lors d'une déprivation tout au long de la gestation et de la lactation; lorsqu'une seule des deux périodes est concernée, la carence durant la lactation occasionne les troubles les plus sévères. Ces observations vont dans le sens de tout ce que nous savons déjà au sujet de l'extrême vulnérabilité de la période postnatale (maturation cérébrale rapide) et de la situation relativement protégée in utero.

1.2. Situation du problème.

Les conséquences d'une sous-alimentation aiguë durant la deuxième phase du développement cérébral, phase de maturation

rapide, sont graves et nous avons formulé l'hypothèse qu'elles peuvent être irréversibles (chap. III). Nous savons d'autre part que cette phase est entièrement postnatale chez la souris (chap. II). En revanche, la première phase du développement cérébral, multiplication et migration neuronales, est entièrement foetale; le cortex cérébral est formé durant la seconde moitié de la gestation, ANGEVINE et SIDMAN (1961), BERRY et ROGERS (1965), HICKS et d'AMATO (1968), BISCONTE et MARTY (1975), BRÜCKNER et al. (1976). Il s'agit d'une période moins vulnérable aux influences nutritionnelles que la phase de maturation rapide, essentiellement parce que foetale, elle est mieux protégée. Par contre, il pourrait y avoir interférence avec les processus de multiplication et de migration neuronales; en conséquence, le nombre de neurones comme l'organisation corticale pourraient être touchés différemment que lors d'une déprivation uniquement postnatale. Toutefois, si l'état de la mère n'est pas suffisamment atteint pour empêcher la gestation, une certaine protection du foetus in utero est réalisée par l'utilisation des réserves maternelles (chap. I, 3.5.).

Ainsi, il nous a semblé intéressant de comparer les effets sur le cortex cérébral d'une période de sous-nutrition postnatale aiguë avec ceux d'une forme de dénutrition moins grave mais commençant au tout début de la vie embryonnaire. Nous avons opté pour un modèle de déprivation portant sur toute la durée de la gestation et de la lactation, plutôt que sur la gestation seule, en raison de sa similitude avec un type de situation humaine (chap. I, 3.7.). Les problèmes qui se posent sont dès lors semblables à ceux que nous avons tenté de résoudre pour la sous-nutrition postnatale : le nombre de neurones est-il diminué comme semblent le montrer certaines études du DNA cérébral, ZAMENHOF et al. (1968), ZEMAN et STANBROUGH (1969), PATEL et al. (1973) ? La prolifération gliale est-elle atteinte? La densité neuronale et le neuropile subissent-ils des modifications ? Les dommages sont-ils différents suivant les couches ou les régions de l'écorce ? et enfin, une bonne nutrition à partir du sevrage excerce-t-elle un effet compensateur ? Autant de questions auxquelles nous pouvons essayer de répondre en quantifiant les paramètres de la maturation corticale que nous avons étudiés jusqu'ici.

CROISSANCE DES ANIMAUX.

2.1. Croissance corporelle (fig. 31).

A la naissance, les petits de mère carencée ont un poids significativement inférieur ($p < 0,001$) de 9% à celui des témoins; la croissance se poursuit ensuite de manière semblable à celle des animaux normaux et sous-alimentés postnatalement, mais avec des valeurs qui sont constamment comprises entre celles des témoins et celles des animaux carencés par séparation d'avec la mère (chap. II, 2.1.; chap. III, 2.1.). La mortalité est quasi inexistante ($\sim 5\%$) jusqu'au sevrage, qui a lieu entre 21 et 23 jours comme pour les témoins; la nourriture standard est à disposition *ad libitum* à partir de ce moment. A 21 jours, le poids des animaux représente le 20% de sa valeur à 180 jours et le 64% de la valeur témoin. La phase de croissance rapide, débutant à 21 jours chez les témoins et à 30 jours seulement chez les sous-alimentés postnatalement, s'amorce déjà un peu entre 21 et 30 jours pour les petits de mère mal nourrie; mais la période de croissance la plus rapide a lieu entre 30 et 45 jours, se poursuivant ensuite parallèlement à celle des témoins jusqu'à 60 jours. A 30 jours, le poids des animaux de cette série est le 32% de sa valeur adulte et le 60% de la valeur témoin, tandis qu'à 60 jours il est de 73% de sa valeur adulte et le 82% de la valeur témoin. La croissance corporelle se poursuit alors de manière continue, de sorte qu'à 90 jours le poids des petits de mère mal nourrie n'est que peu différent de celui des témoins ($p < 0,05$), et qu'à 180 jours il n'y a plus de différence significative.

Cette forme d'atteinte nutritionnelle par malnutrition maternelle permet donc une restauration complète du poids, si la période de récupération *ad libitum* est suffisamment longue. Rappelons que ce n'est pas le cas pour les animaux de notre première expérience, ayant souffert d'une déprivation aiguë entre 0 et 21 jours (chap. III, 2.1.).

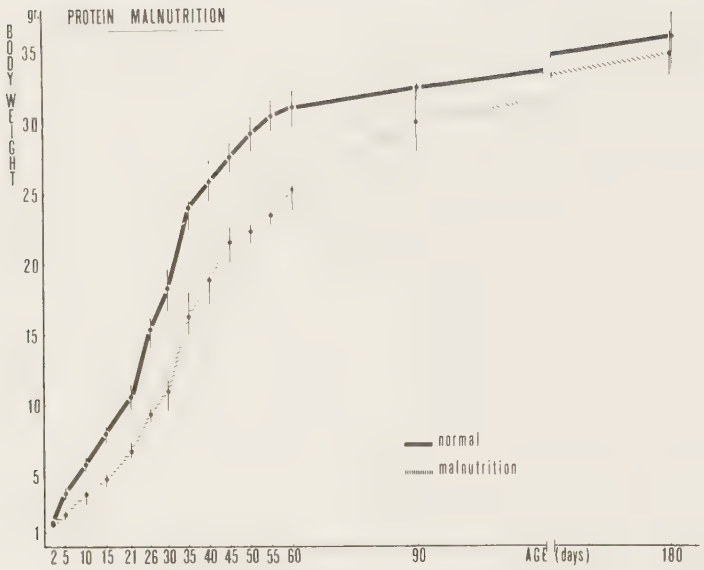


Figure 31 : Poids corporel des animaux normaux et des petits de mère mal nourrie entre la naissance et 180 jours.

$\bar{X} \pm SD$

La malnutrition de la mère (régime protéique 8%) commence 1 mois avant le début de la gestation et se poursuit tout au long de la gestation et de la lactation.
Les animaux sont pesés chaque jour, entre le 2ème et le 21ème jour postnatal, puis tous les 5 jours; pour des exigences de clarté, le poids n'a pas été reporté à tous les âges sur le graphique.

Le poids des petits de mère mal nourrie est diminué de 9% à la naissance et la croissance est ensuite inférieure à celle des témoins. A 180 jours cependant, la récupération semble bonne et il n'y a plus de différence significative avec les témoins.

Comportement.

Contrairement à ce qui se passe pour les animaux sous-alimentés par séparation d'avec la mère, l'ouverture des yeux et des oreilles, ainsi que l'apparition de la fourrure, ne sont pas différées de plus de 24 heures au cours de la maturation. Le comportement des animaux nous semble aussi plus proche de celui des témoins (course dans la cage; réactions de peur peu importantes au cours de la pesée), mais pas plus que dans la première expérience, nous ne l'avons véritablement quantifié.

Croissance cérébrale (fig. 32).

De manière analogue à la croissance corporelle, la croissance des hémisphères cérébraux des petits de mère mal nourrie présente des valeurs intermédiaires entre celles des témoins et celles des animaux sous-alimentés après la naissance. En effet, chez les témoins le poids des hémisphères cérébraux augmente beaucoup entre 5 et 10 jours et entre 10 et 30 jours, âge auquel il atteint sa valeur maximale, alors que chez les petits de mère mal nourrie, le poids des hémisphères est à 10 jours le 47% de sa valeur adulte et à 30 jours le 59% seulement; à 60 jours, il représente le 91% et il y a encore une légère augmentation jusqu'à 180 jours. A 10 jours, le poids des hémisphères pour cette série est le 68% de la valeur témoin, à 30 jours le 53%, à 60 jours le 83% et à 180 jours le 91%. La différence est significative ($p < 0,001$) à tous les âges.

Nous observons à nouveau le même phénomène que dans la sous-alimentation postnatale (chap. III, 2.3.) : le pourcentage de la valeur témoin est inférieur à 30 jours (53%), à celui observé à 10 jours (68%). Dans la croissance normale, le poids adulte est atteint à 30 jours avec augmentation de 40% entre 10 et 30 jours, alors que pour les petits de mère mal nourrie, l'augmentation entre 10 et 30 jours est d'environ 14% seulement.

DESCRIPTION DES AIRES.

Nous n'avons pas trouvé de malformation cérébrale ni de particularité histologique dans les aires étudiées 10, 4, 3 et 17

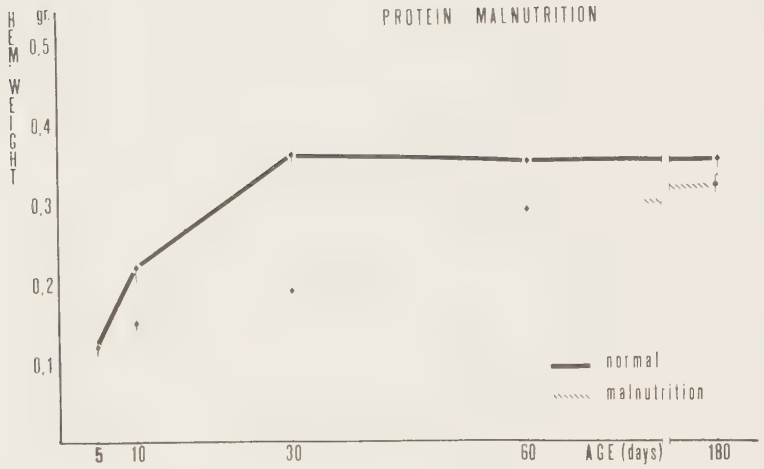


Figure 32 : Poids des hémisphères cérébraux des animaux normaux (5, 10 30, 60 et 180 jours) et des petits de mère mal nourrie (10, 30, 60 et 180 jours).

$\overline{X} \pm$ SEM

La croissance des hémisphèresde la progéniture de mère mal nourrie est réduite. Il n'y a pas de pic entre 5 et 30 jours, mais l'augmentation de poids se poursuit lentement jusqu'à 180 jours, où le déficit de 9% seulement est néanmoins encore significatif ($p < 0,001$).

(KRIEG (1946), hormis une densité cellulaire plus élevée; ce fait est évident surtout à 10 jours, beaucoup moins à 30 jours, et à 60 et 180 jours, il n'est pas observable sans quantification. Nous ne nous étendrons pas plus sur la description qualitative de ces aires.

4. CYTOARCHITECTONIE QUANTITATIVE.

4.1. Diamètre nucléaire (tab. 15).

Les diamètres nucléaires neuronaux mesurés pour leur utilisation dans la correction d'ABERCROMBIE (1946), présentent chez les petits de mère mal nourrie des valeurs inférieures à celles des témoins (chap. II, 4.1.) et supérieures à celles des animaux carencés après la naissance (chap. III, 4.1.). Le déficit est d'environ 10%.

La répartition des noyaux de neurones dans les couches et la variation de leur diamètre entre 10 et 30 jours manifestent des caractéristiques analogues à celles de la carence postnatale; le diamètre glial est similaire (chap. III, 4.2.).

4.2. Densité cellulaire

L'étude des densités cellulaires est faite comme dans le cas normal et comme dans la sous-nutrition postnatale (chap. II, 4.2.; chap. III, 4.2.). Elle débute à 10 jours postnatal.

4.2.1. Densité neuronale (fig. 33 et 34).

A 10 jours, les animaux portés puis allaités par une mère mal nourrie, ont dans les aires 10, 4, 3 et 17 de leur cortex cérébral une densité neuronale plus élevée ($p < 0,001$) que les témoins, mais moins élevée que les animaux sous-alimentés par séparation d'avec la mère. Cela est vrai pour toutes les couches; mais les couches II, III et IV ont une densité plus élevée par rapport aux témoins (50-80%) que les couches I, V et VI (20-60%); ce fait représente un retard de maturation pour

Tableau 15 : Malnutrition maternelle : évolution du diamètre nucléaire (en microns) à 10, 30, 60 et 180 jours, et pourcentage de variation par rapport aux valeurs normales; couches I à VI; aires 10, 4, 3 et 17.

Le diamètre nucléaire des neurones est légèrement diminué dans toutes les couches et à tous les âges, chez la progéniture de mère mal nourrie.

NUCL. DIAMETER (micra)		10 DAYS		30 DAYS		60 DAYS		180 DAYS	
LAYERS	AREAS	$\bar{X}$	%	$\bar{X}$	%	$\bar{X}$	%	$\bar{X}$	%
I-II-III	10	8,6	- 12	9,8	- 5	9,7	- 4	9,6	- 6
	4	8,8	- 9	9,9	- 5	9,8	- 5	9,8	- 6
	3	8,8	- 6	9,8	- 4	9,8	- 1	9,7	- 4
	17	8,6	- 7	9,6	- 2	9,7	- 1	9,5	- 2
IV	10	8,0	- 6	8,5	- 7	8,4	- 7	8,5	- 8
	4	7,9	- 8	8,2	- 6	8,3	- 3	8,4	- 7
	3	7,9	- 11	8,3	- 2	8,2	- 1	8,3	- 1
	17	7,8	- 7	8,4	- 6	8,3	- 3	8,4	- 6
V (large neur.)	10	12,0	- 7	12,7	- 3	12,5	0	12,3	- 2
	4	12,0	- 4	12,6	- 5	12,4	- 7	12,2	- 8
	3	11,7	- 6	12,6	- 4	12,6	- 2	12,4	- 5
	17	10,9	- 7	11,5	- 7	11,5	- 5	11,6	- 6
V (small neur.)	10	8,6	- 12	9,8	- 5	9,7	- 4	9,6	- 6
	4	8,8	- 9	9,9	- 5	9,8	- 5	9,8	- 6
	3	8,8	- 6	9,8	- 4	9,8	- 1	9,7	- 4
	17	8,6	- 7	9,6	- 2	9,7	- 1	9,5	- 2
VI	10	8,9	- 10	9,3	- 9	9,2	- 6	9,3	- 7
	4	8,7	- 8	9,2	- 9	9,3	- 5	9,4	- 5
	3	8,6	- 8	9,1	- 6	9,1	- 6	9,2	- 5
	17	8,7	- 9	9,1	- 7	9,0	- 7	9,0	- 6

les couches II, III et IV, comme dans la sous-nutrition postnatale et comme dans le cas normal. On aurait pu s'attendre ici que toutes les couches présentent un déficit de maturation analogue puisque la période de malnutrition maternelle couvre toute la gestation et la lactation, mais ce n'est pas le cas (cf. discussion, 10.3.1.).

En revanche, à 10 jours, la variabilité entre les cortex des 10 animaux étudiés est moins grande que dans les échantillons de sous-nutrition postnatale et proche de celle des animaux normaux.

Entre 10 et 30 jours, la densité neuronale décroît beaucoup dans toutes les couches, mais comme pour les animaux normaux et sous-alimentés postnatalement, de manière plus importante pour les couches II, III et IV, qui semblent ainsi combler leur retard, que pour les couches I, V et VI. A 30 jours, la densité neuronale est cependant toujours plus élevée que chez les témoins ($p < 0,001$) d'environ 30-40%; des différences nettes entre couches n'apparaissent plus.

La densité neuronale continue de diminuer un peu entre 30 et 60 jours, puis entre 60 et 180 jours, mais les différences ne sont plus que rarement ou peu significatives. Il subsiste par contre des différences significatives à ces deux derniers âges entre les animaux normaux et la progéniture de mère mal nourrie: la densité neuronale est encore plus élevée d'environ 15-25%, sauf dans la couche VIb, et dans l'aire 17 à 180 jours, où la différence avec les valeurs témoins n'est que très peu ou pas du tout significative (5-10%).

La maturation corticale de ces animaux, en termes de densité neuronale, est donc moins atteinte que celle des animaux ayant subi une période de sous-nutrition aiguë après la naissance. Chose curieuse, une sélectivité d'atteinte de couches existe malgré un type de dénutrition touchant la totalité du développement. Le déficit à 180 jours est également moins important que dans la sous-nutrition postnatale et la récupération est presque totale dans l'aire 17.

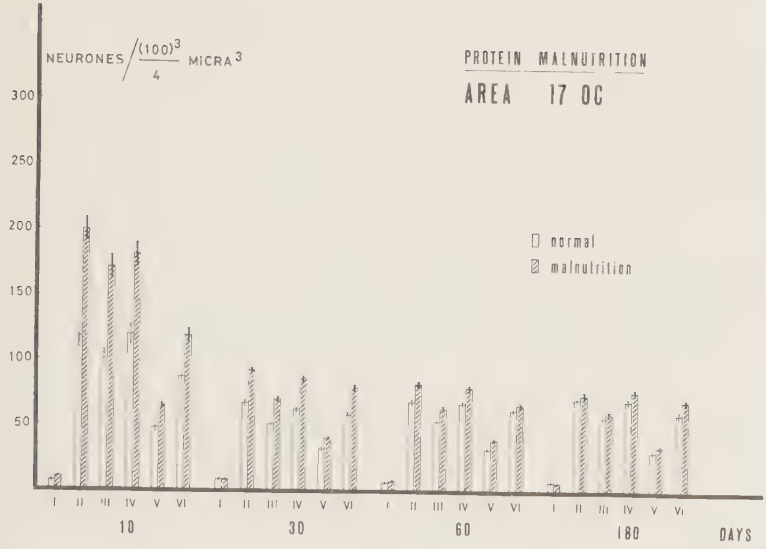


Figure 33 : Malnutrition maternelle : augmentation de la densité neuronale dans l'aire 17 (couches I à VI), à 10, 30, 60 et 180 jours, par rapport aux témoins.

$\bar{X} \pm$ SEM

Le nombre de neurones par unité de volume est beaucoup plus élevé ($p < 0,001$) à 10 jours chez les petits de mère mal nourrie. L'augmentation est plus importante dans les couches II, III et IV que dans les couches I, V et VI. A 30 et 60 jours, les différences, bien que moins importantes, sont encore significatives ($p < 0,001$). A 180 jours, les différences sont peu significatives ($p < 0,05$) ou pas du tout, et on peut admettre un degré certain de récupération.

Le phénomène est presque similaire dans les aires 10, 4 et 3, mais les différences avec les témoins sont toujours significatives ($p < 0,001/p < 0,01$ selon les couches) à 180 jours (cf. fig. 34).

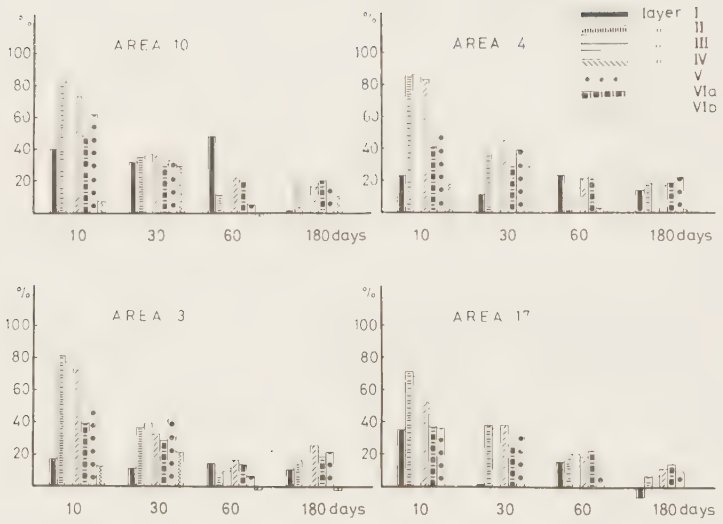


Figure 34 : Malnutrition maternelle : augmentation de la densité neuronale dans les couches des aires 10, 4, 3 et 17, à 10, 30, 60 et 180 jours.

Les valeurs sont exprimées en % de plus forte densité par rapport à la normale. On constate que dans les quatre régions étudiées, c'est à 10 jours que l'augmentation est la plus grande avec une atteinte nettement plus importante pour les couches II, III et IV que pour les couches I, V, VIa et VIb. Ensuite, l'augmentation par rapport aux témoins se réduit, et à 180 jours dans l'aire 17 elle n'est plus ou très peu significative.

4.2.2. Densité gliale (tab. 16).

La densité gliale n'est diminuée de manière significative à aucun des âges étudiés chez les petits de mère mal nourrie. Dans les couches I et VIb, elle est même parfois plus élevée. La relative stabilité du nombre de cellules gliales par unité de volume au cours du développement, avec une légère augmentation à 180 jours, ainsi que le gradient de densité croissant de la couche II à la couche VI, couche I exceptée, sont respectés. Le phénomène est tout à fait analogue à ce que nous avons constaté chez les animaux normaux (chap. II, 4.2.2.) et sous-alimentés postnatalement (chap. III, 4.2.2.).

4.2.3. Densité cellulaire dans la substance blanche (tab. 16).

Les résultats sont très semblables à ceux que nous avons trouvés pour les animaux témoins et sous-alimentés postnatalement, et il y a peu de renseignements à tirer des chiffres de population cellulaire dans la substance blanche, en raison de l'inhomogénéité de cette structure (chap. II, 4.2.3.; chap. III, 4.2.3.).

5. MESURE DE L'EPAISSEUR DES COUCHES (tab. 17).

Les épaisseurs mesurées dans le cortex des petits de mère mal nourrie suivent à l'âge adulte le modèle observé dans le cas normal (chap. II, 5.). Le "pattern" d'épaisseur de couches dans les différentes aires est analogue à celui des témoins, et cela correspond au fait que nous n'avons pas observé de différence de structure dans l'organisation corticale de ces animaux (3.). Les épaisseurs mesurées de chaque couche et de la totalité du cortex sont parfois inférieures et parfois supérieures à celles des témoins. Cela nous induit à la plus grande prudence dans l'utilisation de ce critère, et nous préférons en fait utiliser le critère du volume pour mesurer le degré d'atteinte corticale dû à la carence maternelle (chap. III, 5.).

Tableau 16 : Malnutrition maternelle : Densités gliales dans les couches des aires 10, 4, 3 et 17 et dans la substance blanche sous-jacente à chaque aire (W.M.).

Le degré de significativité par rapport aux témoins est indiqué sur le tableau; on peut également se reporter aux tableaux 3-6, chap. II, pour les valeurs normales.

*** $p < 0,001$
** $p < 0,01$
* $p < 0,05$
n.s. non significatif.

De manière générale, il n'y a pas de différence de densité gliale significative dans le cortex cérébral des petits de mère mal nourrie.

NUMBER OF GLIAL CELLS IN PROTEIN MALNUTRITION

AREA	LAYERS	10 DAYS $\bar{X}$	SEM		30 DAYS $\bar{X}$	SEM		60 DAYS $\bar{X}$	SEM		180 DAYS $\bar{X}$	SEM	
17	I	20,6	0,6	**	16,2	0,5	**	14,4	0,7	n.s.	13,8	0,4	**
	II	8,0	0,5	n.s.	8,1	0,2	n.s.	7,5	0,5	n.s.	7,1	0,2	n.s.
	III	7,9	0,5	n.s.	8,7	0,3	n.s.	7,4	0,3	n.s.	7,3	0,3	n.s.
	IV	7,8	0,4	*	8,4	0,3	n.s.	8,0	0,4	n.s.	9,5	0,4	n.s.
	V	7,6	0,4	n.s.	9,6	0,3	n.s.	8,4	0,4	n.s.	9,6	0,3	n.s.
	VI	8,7	0,5	n.s.	9,8	0,2	n.s.	9,5	0,4	*	11,6	0,5	n.s.
	W.M.	59,8	2,1	*	48,1	1,2	n.s.	50,4	1,2	n.s.	58,9	1,0	***
3	I	18,4	0,8	n.s.	13,8	0,4	***	13,9	0,4	***	13,4	0,4	***
	II	7,8	0,4	n.s.	7,8	0,2	*	6,6	0,3	n.s.	6,9	0,3	n.s.
	III	7,8	0,3	n.s.	7,7	0,2	n.s.	6,3	0,3	n.s.	7,1	0,3	n.s.
	IV	7,9	0,4	n.s.	7,7	0,2	n.s.	8,2	0,4	n.s.	9,7	0,4	n.s.
	V	8,3	0,3	n.s.	9,1	0,2	n.s.	8,6	0,6	n.s.	10,1	0,4	n.s.
	VIa	8,9	0,3	n.s.	9,5	0,4	n.s.	9,5	0,4	n.s.	10,6	0,4	*
	VIb	12,5	0,3	*	15,3	0,5	***	13,7	0,4	n.s.	16,1	0,7	**
	W.M.	58,6	1,4	n.s.	48,9	1,4	n.s.	50,3	1,0	n.s.	63,5	2,2	***
4	I	18,5	0,7	n.s.	14,3	0,4	***	14,2	0,5	***	13,2	0,4	***
	II	8,1	0,3	n.s.	7,6	0,2	*	7,2	0,3	n.s.	7,2	0,3	n.s.
	III	8,3	0,4	n.s.	7,7	0,3	n.s.	6,7	0,3	n.s.	6,9	0,3	n.s.
	IV	8,4	0,4	n.s.	8,0	0,2	n.s.	7,3	0,2	n.s.	8,3	0,3	n.s.
	V	8,4	0,3	n.s.	8,9	0,3	*	8,3	0,4	n.s.	9,3	0,4	n.s.
	VIa	8,9	0,3	n.s.	9,5	0,2	n.s.	9,3	0,3	n.s.	10,8	0,5	n.s.
	VIb	12,5	0,5	n.s.	14,3	0,5	**	13.2	0,3	n.s.	15,2	0,5	**
	W.M.	60,4	1,5	n.s.	48,3	1,5	n.s.	49,6	1,0	n.s.	59,9	1,6	***
10	I	18,2	0,7	n.s.	14,6	0,5	***	12,6	0,2	***	12,9	0,3	**
	II	7,3	0,3	n.s.	7,6	0,2	***	6,7	0,3	n.s.	7,0	0,2	*
	III	7,9	0,2	n.s.	7,5	0,2	n.s.	6,7	0,2	n.s.	7,5	0,2	n.s.
	IV	7,9	0,2	n.s.	7,9	0,3	n.s.	7,5	0,2	n.s.	9,0	0,3	n.s.
	V	8,2	0,2	n.s.	8,3	0,2	n.s.	8,2	0,3	n.s.	9,7	0,5	n.s.
	VIa	8,4	0,2	n.s.	8,9	0,2	n.s.	9,2	0,3	*	11,4	0,3	n.s.
	VIb	13,4	0,3	***	14,2	0,3	n.s.	13,9	0,4	n.s.	16,9	0,5	***
	W.M.	55,5	1,1	n.s.	49,8	1,2	n.s.	51,8	1,2	n.s.	66,4	1,7	***

Tableau 17 : Malnutrition maternelle : évolution de l'épaisseur (en microns) du cortex total et des couches I à VI, à 10, 30, 60 et 180 jours, dans les aires 10, 4, 3 et 17.

Le pourcentage de variation par rapport aux témoins est indiqué à côté de chaque valeur et montre que les épaisseurs mesurées sont parfois inférieures mais souvent supérieures dans le cortex de petits de mère mal nourrie (cf. texte 5.).

THICKNESS (micra)		10 DAYS		30 DAYS		60 DAYS		180 DAYS	
LAYERS	AREAS	$\bar{X}$	%	$\bar{X}$	%	$\bar{X}$	%	$\bar{X}$	%
I	10	63	- 12	86	- 14	94	0	92	- 6
	4	70	+ 3	83	- 14	81	- 8	90	- 6
	3	63	- 6	81	- 13	84	- 2	84	- 8
	17	65	+ 3	85	- 6	74	- 3	78	- 2
II-IV	10	337	+ 11	345	- 8	336	+ 4	323	- 4
	4	256	- 9	335	- 1	316	+ 2	310	+ 1
	3	292	- 13	385	- 6	385	- 3	369	- 11
	17	222	- 15	273	- 13	284	+ 1	277	- 11
V	10	308	- 16	368	- 14	374	- 11	374	- 15
	4	260	- 6	296	- 2	284	- 3	283	- 8
	3	271	+ 3	292	- 2	281	+ 6	270	- 8
	17	194	+ 7	220	+ 18	210	+ 25	173	- 8
VI	10	415	+ 44	335	+ 3	355	+ 13	340	+ 5
	4	343	+ 20	304	0	334	+ 13	325	- 2
	3	334	+ 19	296	+ 1	315	+ 7	300	+ 1
	17	190	+ 16	153	+ 7	149	+ 22	147	- 3
Total	10	1122	+ 9	1135	- 7	1189	+ 3	1129	- 6
	4	928	+ 2	1018	- 2	1024	+ 4	1008	- 3
	3	959	+ 1	1054	- 4	1065	+ 2	1021	- 7
	17	672	0	731	0	718	+ 11	676	- 7

6. ESTIMATION DU VOLUME CORTICAL (fig. 35).

Dans l'ensemble, le volume cortical de la progéniture de mère mal nourrie évolue avec des valeurs intermédiaires entre celles des témoins et celles des animaux sous-alimentés postnatalement. A 10 jours, le volume cortical est plus petit que celui des témoins de 22%, mais plus grand que celui des animaux carencés postnatalement d'environ 10%. Il augmente entre 10 et 30 jours de manière significative ($p < 0,001$), puis reste stable. A 30 jours, il est toujours plus petit ($p < 0,01$) que celui des témoins d'environ 14%, tandis qu'à 60 jours la différence n'est plus significative, et qu'à 180 jours elle ne l'est que très faiblement ($p < 0,05$), environ 9%. Cela est dû au fait que le volume cortical des témoins diminue entre 30 et 60 jours puis remonte à 180 jours, alors que celui des sujets expérimentaux n'augmente quasiment plus à partir de 30 jours.

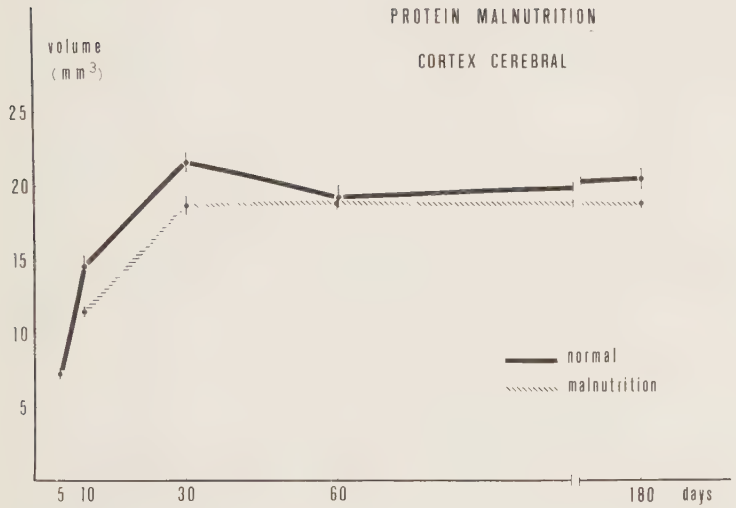
7. ESTIMATION DU NOMBRE TOTAL DE CELLULES DANS LE VOLUME CORTICAL.

7.1. Echantillonnage cortical.

Nous avons vu que chez les animaux sous-alimentés de manière postnatale, le nombre total de neurones n'est pas diminué, mais que par contre un déficit de 13% du nombre de cellules gliales persiste à 180 jours (chap. III, 7.). Nous avons fait les mêmes estimations dans le cortex des animaux nés de mère mal nourrie, à partir de nos échantillonnages de densité cellulaire dans toutes les couches et dans les quatre régions étudiées (chap. I, 8.3., 8.4.).

7.2. Nombre total de neurones (fig. 36).

Comme dans la sous-nutrition postnatale, le processus de perte neuronale physiologique est différé dans le temps et le nombre total de neurones n'est pas diminué à 180 jours par rapport aux témoins.



igure 35 : Malnutrition maternelle : évolution du volume cortical à 10, 30, 60 et 180 jours, comparé à celui des témoins.

$\bar{X} \pm$ SEM

La croissance du volume cortical est moins importante jusqu'à 30 jours chez les petits de mère mal nourrie. En raison des variations existant chez les témoins, à 60 jours la différence n'est plus significative, et à 180 jours elle ne l'est que très faiblement ($p < 0,05$).

En effet, à 10 jours le nombre total de neurones est plus élevé d'environ 20% dans le cortex des petits de mère mal nourrie; il est presque identique au nombre de neurones dans le cortex des animaux sous-alimentés de manière aiguë, et donc très proche de l'estimation faite chez les animaux normaux de 5 jours (chap. III, 7.2.).

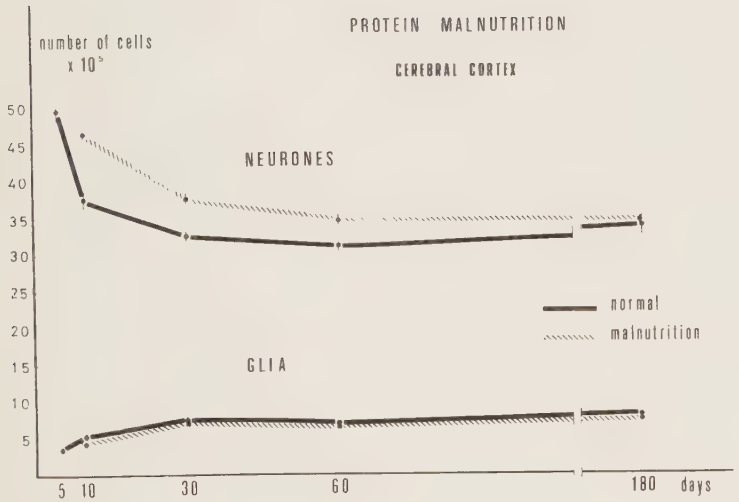
Entre 10 et 30 jours, il diminue de 19% mais reste néanmoins un peu plus élevé que chez les témoins ($\sim$13%) à 30 jours. A 60 jours, la différence est encore de 10%, tandis qu'à 180 jours elle n'est plus significative.

Il semble ainsi que la malnutrition de la mère au cours de la gestation et de la lactation n'agisse pas en diminuant la population neuronale dans son ensemble. Nous reviendrons sur ce sujet dans la discussion (10.3.2.).

7.3. Nombre total de cellules gliales (fig. 36).

De manière générale, le nombre total de cellules gliales est moins diminué que lors d'une période de sous-nutrition postnatale. Comparés aux témoins, les petits de mère carencée présentent cependant un déficit de cellules gliales à 10 jours et à 180 jours, même si une certaine prolifération gliale a lieu tout au long du développement.

A 10 jours le nombre total de cellules gliales est diminué d'environ 20% par rapport aux témoins, mais il est plus élevé que dans le cortex des animaux carencés après la naissance (10%). Entre 10 et 30 jours, la population gliale chez la progéniture de mère mal nourrie augmente de 40%, alors que chez les témoins l'augmentation n'est que de 30%; jusqu'à 180 jours il y a encore une légère augmentation, significative seulement entre 60 et 180 jours. Ainsi à 30 jours et à 60 jours, le nombre de cellules gliales n'est pas significativement différent de celui des témoins; mais à 180 jours, en raison d'une assez forte augmentation chez ces derniers, et d'une moindre augmentation chez les petits de mère mal nourrie, la différence est significative ($p < 0,01$), avec un déficit de 9% pour les petits de mère mal nourrie.



igure 36 : Malnutrition maternelle : évolution des nombres totaux de neurones et de cellules gliales dans le volume cortical, à 10, 30, 60 et 180 jours; comparaison avec les témoins.

$\bar{X} \pm$ SEM

Comme dans le cas normal, une certaine perte de neurones a lieu durant la maturation corticale des petits de mère mal nourrie. A 180 jours, le nombre de neurones n'est cependant pas significativement différent de celui des témoins.

Le déficit dans la prolifération gliale est faible, mais il est néanmoins de 9% à 180 jours.

8. ANALYSE QUANTITATIVE DU NEUROPILE.

8.1. Généralités.

La malnutrition maternelle durant la gestation et la lactation provoque dans le cortex cérébral de la progéniture un retard de maturation qui se solde, à 180 jours, par une densité neuronale trop élevée par rapport aux témoins (4.2.1.), mais par un nombre total de neurones normal (7.2.). Cette situation est identique, bien que moins grave, à celle que nous avons trouvée chez les animaux sous-alimentés de façon aiguë après la naissance. Ces derniers ont en relation avec leur trop forte densité corticale, un neuropile beaucoup moins développé que les témoins (chap. III, 8.). Il est dès lors intéressant de chercher dans quelles proportions le neuropile de la progéniture de mère mal nourrie est atteint. L'étude est faite de la même manière que précédemment, dans les couches III et V de l'aire 17 (âges : 10, 15, 21, 30, 60 et 180 jours).

8.2. Nombre d'épines sur un segment de dendrite apical.

Les épines dendritiques ont été comptées sur les deux catégories de dendrites, diamètre supérieur à 1,5 microns et diamètre inférieur ou égal à 1,5 microns. A chaque âge, la différence entre les nombres d'épines comptés sur les deux catégories de dendrites dans les couches III et V est significative ($p < 0{,}001$); de plus, les proportions de dendrites rencontrées dans chaque catégorie de diamètre, varient aussi bien au cours du développement que dans la comparaison avec les témoins; nous avons déjà expliqué ce phénomène (chap. II, 8.1., 8.2.; chap. III, 8.2.). De manière générale dans les deux couches, le nombre d'épines sur le dendrite apical est inférieur à celui compté chez les témoins; à 180 jours cependant, le déficit n'est plus très grand.

8.2.1. Couche V (fig. 37 et 39).

A 10 jours, le nombre de dendrites de diamètre supérieur à 1,5 microns est légèrement plus élevé que chez les témoins et le nombre d'épines qu'ils portent est très peu inférieur (10%, non significatif). Le nombre d'épines sur les petits dendrites

est en revanche diminué de 20% ($p < 0,001$). Entre 10 et 15 jours, l'augmentation du nombre d'épines est moins importante qu'entre 15 et 21 jours. A cet âge, la population d'épines représente le 70% de sa valeur adulte pour les petits dendrites et le 84% pour les gros dendrites. L'accroissement entre 21 et 30 jours est plus faible, et non significatif pour les petits dendrites. A partir de 30 jours, le nombre d'épines varie encore jusqu'à 180 jours, atteignant des valeurs supérieures à celles de 30 et 60 jours pour les deux catégories de dendrites; ce phénomène est surtout net pour les dendrites de plus de 1,5 microns de diamètre, et il est différent de ce que nous avons observé pour les animaux normaux et sous-alimentés postnatalement, dont la population d'épines à 180 jours est inférieure à celle de 60 jours.

Le processus d'accroissement du nombre d'épines se produit donc de manière relativement analogue au processus normal, avec l'augmentation la plus forte jusqu'à 21 jours, mais il semble cependant que la croissance soit freinée entre 10 et 15 jours, puisque le déficit par rapport aux témoins est plus grand à 15 jours qu'à 10 jours. En tous les cas le nombre d'épines est inférieur ($p < 0,001$) à celui des témoins, 40% à 15 jours et environ 20% à 21, 30 et 60 jours; à 180 jours, le déficit est seulement de 12% pour les petits dendrites et de 6% pour les gros dendrites, la différence pour ces derniers n'étant pas significative. A partir de 21 jours, les proportions de dendrites dans les deux catégories de diamètres sont identiques à celles trouvées chez les témoins.

3.2.2. Couche III (fig. 38 et 39).

A 10 jours, nous n'avons pas trouvé de pyramides dont le diamètre dendritique dépasse 1,5 microns; sur les dendrites de diamètre égal ou inférieur à 1,5 microns, le nombre d'épines est inférieur de 15% seulement ($p < 0,01$) à ce que nous mesurons chez les témoins du même âge. Entre 10 et 15 jours, comme dans la couche V, l'augmentation est beaucoup moins importante que celle des témoins, si bien qu'à 15 jours le déficit est plus important qu'à 10 jours, 23% pour les gros dendrites et 45%

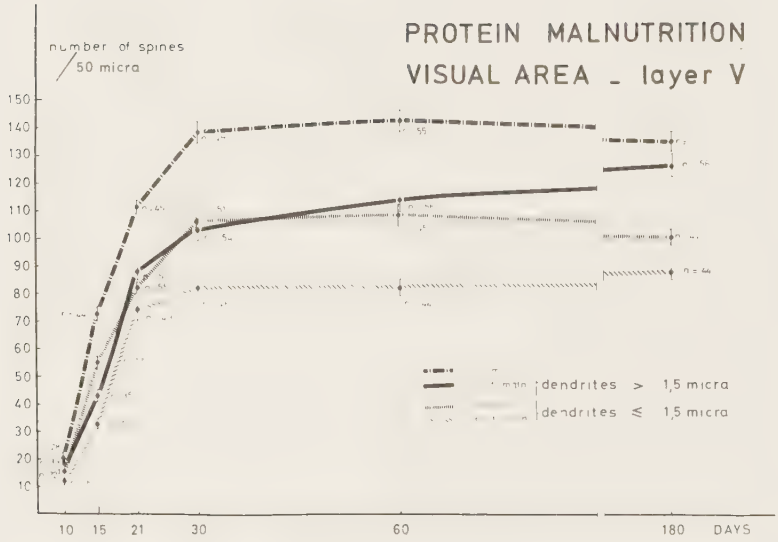
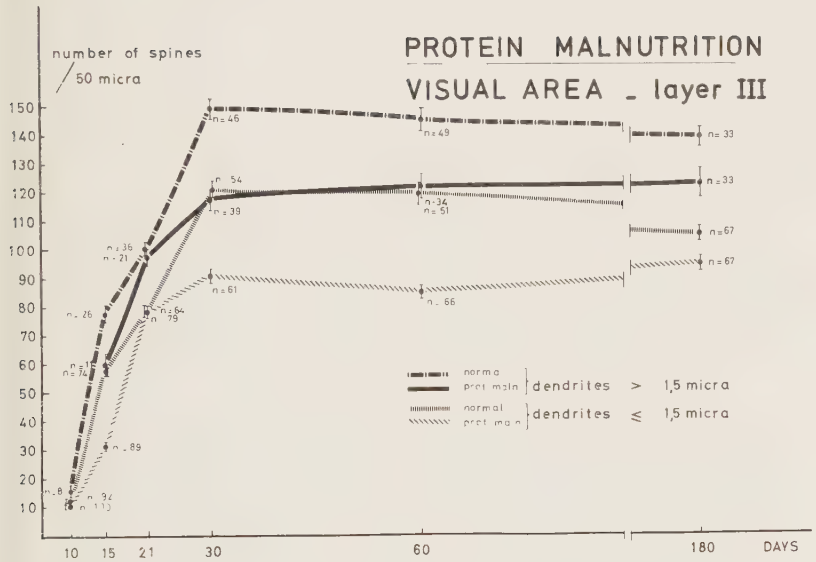


Figure 37 : Malnutrition maternelle : nombre d'épines sur le dendrite apical des pyramides de la couche V, entre 10 et 180 jours, comparé avec celui des témoins; aire visuelle.

$\bar{X} \pm$ SEM

Le nombre de dendrites que nous avons trouvé dans chaque catégorie de diamètre (jusqu'à 1,5 microns ou entre 1,6 et 3 microns) est indiqué sur le graphique (petits chiffres).

Le nombre d'épines sur les deux catégories de dendrites est significativement inférieur ($p < 0,001$) à celui des témoins à chaque âge, sauf à 180 jours pour les dendrites de diamètre supérieur à 1,5 microns.



igure 38 : Malnutrition maternelle : nombre d'épines sur le dendrite apical dans la couche III entre 10 et 180 jours, comparé avec celui des témoins; aire visuelle.

$\bar{X} \pm$ SEM

Le nombre de dendrites que nous avons trouvé dans chaque catégorie de diamètre (jusqu'à 1,5 microns ou entre 1,6 et 3 microns) est indiqué sur le graphique (petits chiffres).

Jusqu'à 60 jours, le nombre d'épines sur les deux catégories de dendrites est significativement inférieur ($p < 0,001$) chez la progéniture de mère mal nourrie. A 180 jours, toutefois, le déficit n'est plus que de 10% environ ($p < 0,01$).

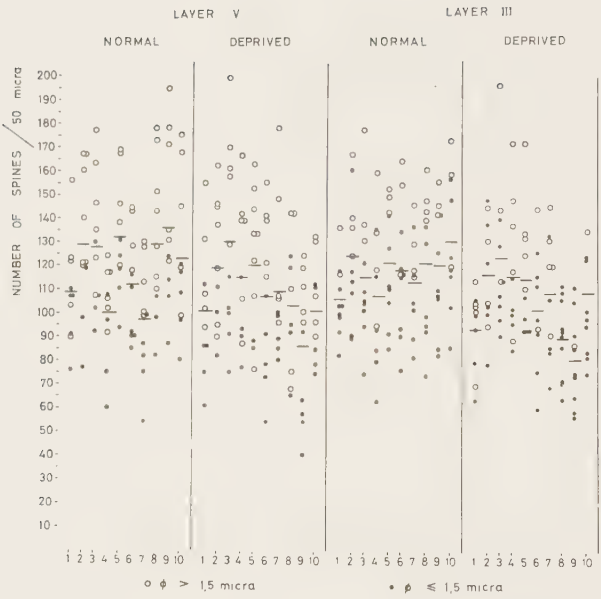


Figure 39 : Malnutrition maternelle : nombre d'épines sur le dendrite apical des pyramides des couches V et III à 180 jours, comparé avec celui des témoins; aire visuelle.

Ce graphique représente les valeurs individuelles comptées sur 10 pyramides chez 10 animaux différents et sur les deux catégories de dendrites apicaux. Le trait horizontal indique la moyenne pour chaque animal.

Les nuages de points sont sensiblement à la même hauteur; dans la couche V le déficit n'est significatif que pour les petits dendrites, alors que dans la couche III le déficit est d'environ 10% pour les deux catégories de dendrites.

pour les petits ($p < 0,001$). Entre 15 et 21 jours, l'accroissement des épines est en revanche très important, et à 21 jours dans la couche III, la différence avec les témoins n'est pas significative.

L'augmentation se poursuit pour les deux catégories de dendrites, encore importante entre 21 et 30 jours, puis très faible jusqu'à 180 jours.

A 30 et 60 jours, le déficit par rapport aux témoins est de 20-30% ($p < 0,001$), mais à 180 jours il n'est plus que de 10% environ ($p < 0,01$). A tous les âges hormis 180 jours, nous avons trouvé un nombre de dendrites de diamètre inférieur à 1,5 microns plus grand que dans le cas normal, ce qui semble constituer un signe d'atteinte dendritique.

8.3. Nombre d'intersections dendritiques.

Le nombre d'intersections dendritiques autour du périkaryon est mesuré comme dans la sous-nutrition postnatale (chap. III, 8.3.). De manière générale, la croissance de ce paramètre est beaucoup moins atteinte chez la progéniture de mère mal nourrie, et également moins touchée que celle des épines dans la carence maternelle (8.2.), puisque le déficit est totalement rattrapé à 180 jours dans les deux couches.

8.3.1. Couche V (fig. 40).

Le nombre d'intersections dendritiques autour du périkaryon pour les petits de mère mal nourrie est peu diminué au cours du développement; la croissance suit une courbe assez parallèle à celle des témoins, exception faite de l'âge de 30 jours, où le nombre d'intersections dendritiques est moins grand qu'à 21 jours chez les animaux carencés. A 10, 15, 21 et 30 jours, la différence avec les témoins est significative, mais le déficit est autour de 10% seulement jusqu'à 21 jours, atteignant 20% à 30 jours (10 jours : $p < 0,01$; 15 jours : $p < 0,05$; 21 et 30 jours : $p < 0,001$). A 60 et 180 jours, la densité dendritique est analogue à celle des témoins.

8.3.2. · Couche III (fig. 40).

Le phénomène est très similaire dans la couche III où la courbe de croissance suit encore de plus près celle des témoins, hormis l'échantillon de 30 jours. La différence entre animaux carencés et témoins n'est significative qu'à 15 jours ($p < 0,01$) et à 30 jours ($p < 0,001$), les déficits étant respectivement de 10 et 20%. A 10, 21, 60 et 180 jours, il n'y a pas de différence significative avec les témoins.

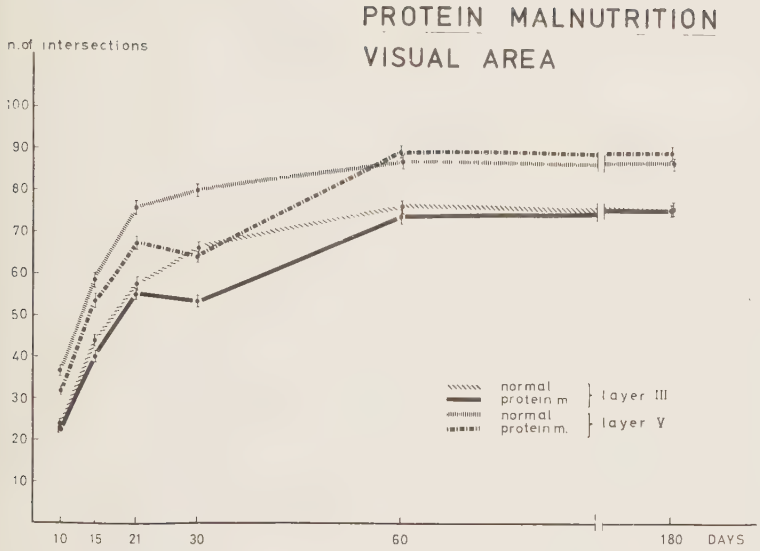
8.4. Distribution dendritique (fig. 41).

La maturation de la répartition dendritique autour du périkaryon des pyramides des couches V et III ressemble, chez les petits de mère mal nourrie, à celle des animaux sous-alimentés après la naissance. Il y a en effet peu d'intersections de dendrites lorsqu'on s'éloigne du corps cellulaire au début du développement. A 10 jours, le nombre maximum de branchements se trouve à 18,84 microns du corps cellulaire, tandis qu'à 15, 21 et 30 jours, il se trouve à 28,26 microns du périkaryon; chez les témoins il est déjà à 37,68 microns à 15 et 21 jours, et à 47,10 microns à 30 jours. Cependant, à 60 et 180 jours, il n'y a plus aucune différence entre les animaux normaux et carencés, et le maximum est à 47,10 microns.

La croissance dendritique à partir du périkaryon (éloignement de la zone de branchement maximum) est donc retardée jusqu'à 30 jours, mais la récupération est totale à l'âge adulte.

8.5. Comparaison des couches V et III (fig. 37-41).

Contrairement à ce qui se passe dans la sous-nutrition post-natale, le déficit concernant le nombre d'épines n'est pas plus grand dans la couche III que dans la couche V au début du développement et la même chose est vraie pour le nombre d'intersections dendritiques. La distribution dendritique est également similaire dans les deux couches. Par contre, on ne trouve dans la couche III à 10 jours aucune pyramide ayant un dendrite apical de diamètre supérieur à 1,5 microns, comme dans la sous-



igure 40 : Malnutrition maternelle : nombre total d'intersections dendritiques avec 8 cercles concentriques dans un rayon de 75 microns autour du corps cellulaire entre 10 et 180 jours; aire visuelle; couches V et III; comparaison avec les témoins.

$\bar{X} \pm$ SEM

La courbe de croissance chez les petits de mère mal nourrie est parallèle à celle des témoins, hormis l'échantillon de 30 jours; les différences ne sont significatives pour les deux couches que jusqu'à 30 jours; à 60 et 180 jours, la récupération est totale.

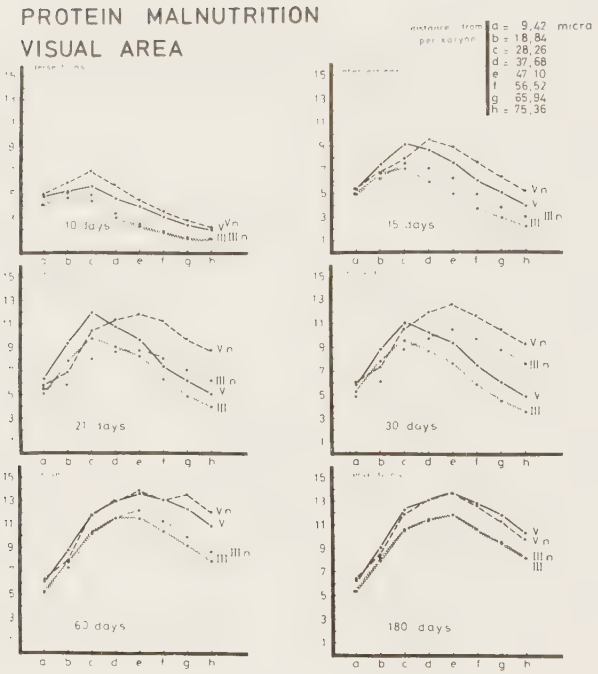


Figure 41 : Malnutrition maternelle : distribution des intersections dendritiques en fonction de la distance au périkaryon; aire visuelle; couches V et III; comparaison avec les témoins (Vn et IIIn).

Représentation du nombre d'intersections avec des cercles d'éloignement croissant (a à h) jusqu'à 75,36 microns du corps cellulaire.

Le retard de maturation chez les petits de mère mal nourrie est indiqué à la fois par un nombre d'intersections dendritiques inférieur jusqu'à 30 jours et par un éloignement moins rapide du périkaryon de la zone de branchement maximum. A 60 et 180 jours la récupération est totale pour ces deux paramètres.

nutrition postnatale; puisque ce nombre augmente par la suite, cela constitue le seul signe de retard de maturation plus important dans la couche III que dans la couche V.

9. IMPORTANCE RELATIVE DES DIFFERENTS PARAMETRES (tab. 18).

Nous avons déjà analysé les rapports complexes existant entre les différents paramètres de la maturation corticale normale (chap. II, 9.). Nous avons vu également que ces relations étaient maintenues dans la sous-nutrition postnatale, malgré le décalage des processus et le retard de développement persistant à 180 jours (chap. III, 9.). La dynamique corticale de la progéniture de mère mal nourrie n'est pas vraiment différente et nous n'allons pas revenir en détail sur ce problème. Mentionnons seulement que la maturation dans son ensemble (diminution de densité neuronale, augmentation du neuropile et du volume cortical, mort neuronale, prolifération gliale) est à la fois moins différée et moins atteinte que dans la sous-nutrition postnatale; en revanche, elle se prolonge bien après 30 jours et la récupération se poursuit jusqu'à 180 jours pour certains paramètres. Chose curieuse, il y a également des différences de région, et l'aire 17 présente une meilleure maturation à 180 jours que les aires 10, 4 et 3, (fig. 34).

Néanmoins après une longue période de réhabilitation nutritionnelle, un léger retard persiste au niveau du nombre d'épines dans l'aire 17, des densités neuronales dans les autres aires, du volume cortical et de la population gliale totale; le nombre total de neurones étant, lui, normal. Cette situation est donc semblable, mais moins grave, à celle que nous avons démontrée dans la sous-nutrition postnatale. Il semble ainsi que les conséquences d'une carence nutritionnelle sur le cortex cérébral varient avec l'importance de la déprivation durant la période critique, mais qu'aucun processus de développement ne subisse de changement fondamental (cf. discussion 10.4.).

Tableau 18 : Atteinte corticale de la progéniture de mère mal nourrie : variations (en %) des différents paramètres de maturation par rapport aux valeurs normales à 10, 15, 21, 30, 60 et 180 jours:

- poids des hémisphères cérébraux
- volume cortical
- nombre total de neurones
- nombre total de cellules gliales
- densité neuronale
- nombre d'épines dendritiques
- nombre d'intersections dendritiques

C'est à 10 et 15 jours que les dommages sont les plus importants; ils persistent selon des proportions variables tout au long de la maturation, mais à 180 jours, on peut considérer qu'un certain degré de récupération existe.

% OF DAMAGE VERSUS CONTROL VALUES IN MATERNAL MALNUTRITION

DAYS	hem. weight	cortical volume	n. of neurons	n. of glial cells	LAYER V			LAYER III		
					neuronal density	spines	dendritic inter-sections	neuronal density	spines	dendritic inter-sections
10	22	21	19	21	27-32	10-21	13	40-46	16	5
15	-	-	-	-	-	40-41	9	-	23-45	11
21	-	-	-	-	-	9-21	11	-	1-3	3
30	50	14	13	5	20-23	23-25	20	27-28	21-25	20
60	17	2	10	2	12-18	20-25	3 (+)	8-16	16-28	3
180	9	9	2	9	12-17	6-12	3 (+)	5-15	10-12	1(+)

10. DISCUSSION.

10.1. Considérations générales.

La méthode expérimentale de malnutrition protéique a été discutée au chapitre I (3.5.). Rappelons brièvement la principale critique qu'on peut lui faire : son application à la mère rend improbable un déficit strictement protéique pour les petits, puisque durant la gestation une certaine protection du foetus existe au détriment des réserves maternelles, NAISMITH (1973), et que durant la lactation c'est plutôt la quantité que la qualité du lait qui est touchée, MILLER (1970). La seule façon d'obtenir une carence spécifique aurait été d'adopter une alimentation artificielle, impossible à réaliser durant la gestation et extrêmement difficile durant la période postnatale. Nous sommes ainsi en présence d'une forme de dénutrition plus proche de la sous-nutrition chronique que de la malnutrition réelle. Néanmoins, si nous ne perdons pas de vue le problème humain (cf. chap. V), il s'agit en fait d'un modèle très utile car il reproduit une situation fréquente chez l'homme. Ce modèle a du reste été fort utilisé par de nombreux auteurs avec plusieurs variantes : degré du déficit protéique, durée de la carence (gestation seule ou mi-gestation, lactation seule, gestation et lactation), temps de réhabilitation, etc. Une alternative appliquée par certains auteurs consiste en la sous-nutrition de la mère par accès limité à la nourriture ou par réduction quantitative d'un régime équilibré. Dans les deux cas la mère est "l'agent" de la dénutrition des petits, autant durant la gestation que durant la lactation; à la complexité des rapports protéines-calories, MORRISON et NARAYANA RAO (1967), s'ajoute le fait que nous ne savons pas exactement de quelle façon intervient le métabolisme maternel (chap. I, 3.6.). La question est bien évidemment intéressante à résoudre, mais ce n'est pas l'objet de notre recherche. Au niveau de notre étude, nous pouvons nous permettre de comparer les effets sur le développement cortical des petits, d'une malnutrition ou d'une sous-nutrition maternelle (ou d'une combinaison des deux), révélés par des travaux différents. Les mêmes précautions s'imposent dans la

comparaison que dans le cas de la sous-nutrition postnatale, en raison de la variabilité des paramètres en présence (chap. III, 10.1.).

Avec cette seconde forme de carence nutritionnelle, nous désirions connaître la gravité des conséquences d'une dénutrition modérée portant sur toute la période de mise en place et de maturation corticales, comparée à celle d'une dénutrition plus sévère limitée à la période de croissance rapide (chap. III). Les conditions pour une comparaison optimale nous semblent réalisées : souche de souris et provenance identiques, conditions de laboratoire similaires, paramètres testés tout à fait semblables.

10.2. Retard général de croissance.

Un retard de croissance in utero doit exister dans notre expérience, puisque malgré une gestation de longueur normale, les petits ont à la naissance, un déficit de poids significatif (9%; $p < 0,001$). Rappelons que la carence maternelle commence un mois avant le début de la gestation, alors que les femelles sont âgées de 30 jours et n'ont pas tout à fait terminé leur croissance corporelle. L'accumulation de trop grandes réserves a ainsi été limitée, mais pas suffisamment pour empêcher la gestation, puisqu'en dessous d'un certain degré de malnutrition protéique (5-6%), la gestation n'est pas possible, ALTMAN et al. (1970).

La croissance des petits de mère mal nourrie est ensuite freinée par rapport à celle des témoins mais s'effectue avec des valeurs toujours au-dessus de celles des animaux sous-alimentés de notre première expérience (2.1.); la mortalité est quasi inexistante (moins de 5%). La plupart des auteurs, que nous allons citer plus loin, ont démontré une croissance perturbée de la progéniture lorsque la mère subit une carence protéique ou calorique; le déficit est souvent du même ordre de grandeur que dans nos résultats (environ 40% à 30 jours et 20% à 60 jours), GAMBETTI et al. (1972), PATEL et al. (1973), DYSON et JONES (1976), etc., mais des différences peuvent exister suivant la méthode de carence.

Il est particulièrement intéressant de constater que la carence maternelle, au contraire de notre première forme de sous-nutrition, inhibe la croissance des petits au début du développement, mais permet une récupération complète à l'âge adulte, puisqu'il n'y a plus de différence de poids avec les témoins à 180 jours.

La croissance cérébrale est également freinée par la carence maternelle surtout entre 10 et 30 jours, âge auquel le déficit de poids est encore de près de 50% (2.3.). Cependant la récupération est bien meilleure que dans la sous-nutrition postnatale, puisqu'à 180 jours le déficit n'est plus que de 9%. Un tel phénomène a également été signalé par plusieurs auteurs, SIASSI et SIASSI (1973), AHMAD et RAHMAN (1975), ECKHERT et al. (1976), etc.

Sur la base de l'évolution de ces deux paramètres, poids du corps et des hémisphères cérébraux, nous pouvons déjà dire que le cortex cérébral de la progéniture de mère mal nourrie devrait être moins altéré que celui des petits sous-alimentés entre 2 et 21 jours postnatal. En effet, au début du développement surtout, la croissance des animaux est un bon indice de leur maturation corticale (chap. II, 10.3.1.).

10.3. Retard de maturation dans le cortex cérébral.

Nous allons voir maintenant, en accord avec les suppositions basées sur la croissance des animaux (10.2.), que le cortex cérébral de la progéniture de mère mal nourrie subit effectivement des dommages moindres à travers la carence maternelle que celui des sujets de notre première expérience (chap. II) : non seulement tous les paramètres corticaux étudiés manifestent des valeurs situées entre celles des témoins et celles des animaux ayant subi une sous-nutrition postnatale aiguë, mais nous pouvons admettre un certain degré de récupération à 180 jours.

10.3.1. Densités neuronales et gliales.

Les petits de mère mal nourrie subissent déjà un retard de croissance in utero puisque leur poids à la naissance est inférieur à celui des témoins (10.2.). Nous n'avons pas examiné le cortex cérébral des animaux à ce moment, mais il ne semble pas exister d'interférence avec les processus de migration neuronale dans l'écorce durant la gestation. En effet, à 10 jours postnatal (limite expérimentale fixée, chap. III, 10.3.1.), la lamination est normale, bien que caractéristique dans certains cas d'animaux plus jeunes, et nous n'avons pas observé de neurones ectopiques dans les couches. Une densité cellulaire plus élevée que chez les témoins est trouvée dans les quatre aires étudiées, 10, 4, 3 et 17 (4.2.1.); le pourcentage d'augmentation est moindre que dans notre première expérience mais le phénomène est le même au niveau des différentes couches : les couches I, V et VI (VIa, VIb) sont moins touchées (20-60%) que les couches II, III et IV (50-80%). Si la malnutrition de la mère avait déjà agi sur le cortex cérébral des petits avant ou autour de la naissance, nous aurions pu trouver des troubles de la migration, ou en tout cas des dégâts plus uniformes, puisque les couches I, V et VI commencent leur maturation plus tôt que les couches II, III et IV; ces dernières ont leur pic de diminution de densité neuronale entre 5 et 10 jours postnatal et nous avons supposé que ce pic se produisait avant 5 jours pour les couches I, V et VI, en accord avec les observations de KRISTT et MOLLIVER (1976), démontrant une grande augmentation de synapses dans les couches profondes entre 2 et 6 jours postnatal chez le rat (chap. II, 10.1.2.). Il n'existe à notre connaissance aucune étude portant sur ce problème dans les derniers jours de gestation chez le rat ou la souris, et il est difficile de savoir si la maturation des couches I, V et VI commence déjà à ce moment.

Ainsi, il nous semble probable que la carence maternelle n'est pas suffisamment importante durant la gestation pour empêcher les adaptations métaboliques protégeant le foetus au détriment de la mère, NAISMITH (1973). Le développement cortical ne serait alors pas freiné in utero mais à partir de la naissance, puisque la malnutrition maternelle induit une diminution du lait dispo-

nible pour les petits, MILLER (1970). Cependant, si une sous-nutrition modérée touche les petits dès la naissance, et si les couches I, V et VI ont leur phase de maturation rapide entre 1 et 5-6 jours postnatal, elles ne devraient pas manifester une atteinte moins grande que les couches II, III et IV. Nous pensons donc que leur maturation débute durant la toute dernière partie de la gestation, moment encore protégé des influences nutritionnelles.

Entre 10 et 30 jours, il y a une diminution de densité neuronale plus grande pour les couches II, III et IV ($\sim$ 20%) que pour les couches I, V et VI ($\sim$ 10%), indiquant que la maturation se poursuit; le processus est plus important que chez les témoins dans le même laps de temps, mais moins important que chez les animaux sous-alimentés de façon aiguë. A 30 jours, les couches II, III et IV ont rattrapé leur retard sur les couches I, V et VI, mais la densité neuronale est toujours plus élevée d'environ 30-40%. Elle continue ensuite de diminuer mais de manière peu significative entre 30 et 60 jours ou entre 60 et 180 jours. Néanmoins, si l'on considère toute la période de 30 à 180 jours correspondant à la réhabilitation nutritionnelle, la diminution est encore de 10% environ pour les aires 3, 4 et 10 et de près de 20% pour l'aire 17. Dans cette dernière aire, les différences avec les témoins ne sont que très peu ou pas du tout significatives à 180 jours, alors qu'elles le sont encore pour les aires 3, 4 et 10 (couche VIb exceptée). Contrairement aux animaux de notre première expérience, la progéniture de mère mal nourrie manifeste ainsi un certain degré de récupération corticale au niveau de la densité neuronale dans les couches, après une réhabilitation suffisamment longue. En accord avec les principes de la cytoarchitectonie quantitative et avec les corrélations que nous connaissons pour les variations de la densité neuronale (chap. II, 9.), nous pouvons maintenant nous attendre à trouver des problèmes de mort neuronale et d'accroissement du neuropile au début du développement, mais la maturation du neuropile (dendrites et épines) devrait être meilleure à 180 jours

que dans la sous-nutrition postnatale (10.3.2., 10.3.3.).

A nouveau les études morphologiques de ce type sont peu nombreuses. SUGITA (1918b) avait déjà émis l'hypothèse que la sous-nutrition postnatale pouvait avoir des conséquences plus graves sur le développement cérébral lorsque les petits étaient séparés de la mère, que lorsque celle-ci subissait elle-même la carence. Il n'a cependant pas considéré les deux formes de dénutrition comme fondamentalement différentes; ses résultats, souvent basés sur la moyenne des différentes séries, démontrent bien une élévation de densité neuronale dans le cortex cérébral. Depuis, SIASSI et SIASSI (1973) ont effectué des comptages cellulaires à 10 et 21 jours postnatal dans le cortex cérébral d'animaux nés de mère mal nourrie, mais donnés "en nourrice" à des mères bien nourries; leur réhabilitation commence donc au tout début de la période de croissance maximale, et nous ne pouvons pas comparer ces résultats avec les nôtres. Les auteurs en question ont tout de même trouvé une densité neuronale plus élevée dans le cortex cérébral de leurs sujets d'expérience ($\sim$ 50% à 10 jours); cela tendrait à prouver que la carence in utero a un effet sur la suite du développement cortical, même si elle cesse à la naissance, contrairement à ce que nous avons dit plus haut. N'ayant pas procédé à une troisième expérience du type de celle de SIASSI et SIASSI (1973), malnutrition maternelle uniquement durant la gestation, nous ne pouvons pas trancher.

Après malnutrition de la mère durant toute la gestation et la lactation, STEWART et al. (1974) ont constaté qualitativement une densité neuronale plus élevée dans le cortex du rat, tandis que GAMBETTI et al. (1974) ont démontré une augmentation de 38-40% au niveau de la couche V chez des rats âgés de 24 jours. Ce résultat est plus élevé que ce que nous-même trouvons dans la couche V à 30 jours (25-30%), mais il a été établi par comptage des profils neuronaux en ultrastructure, ce qui peut en expliquer la divergence.

Notre travail semble ainsi le seul à démontrer, que la malnutrition de la mère sur l'ensemble de la gestation et de la lactation, induit chez la progéniture une augmentation de densité neuronale dans toutes les couches de quatre régions différentes de l'écorce, signifiant un retard de maturation important; ce dernier est cependant partiellement rattrapé et même presque totalement dans l'aire 17, si la période de réhabilitation nutritionnelle est suffisamment longue.

Comme dans la sous-nutrition postnatale, la densité gliale chez la progéniture de mère mal nourrie ne nous permet de tirer aucune conclusion, puisque ses variations par rapport aux témoins sont faibles ou non significatives (4.2.2.). Le nombre total de cellules gliales par contre montrera des différences (10.3.2.).

10.3.2. Volume cortical et nombres totaux de cellules.

Nous allons retrouver maintenant la même question que dans notre première expérience : le nombre de cellules (neuronales et gliales) est-il réduit dans le cortex cérébral des petits de mère mal nourrie et dans quelle proportion ? Les effets pourraient être différents de ceux d'une période de sous-nutrition uniquement postnatale, si la carence maternelle avait une action sur le taux de division cellulaire et de migration neuronale dans la seconde moitié de la gestation, en diminuant ainsi le nombre total de neurones. Par contre, une forme de sous-nutrition plus modérée que la déprivation postnatale aiguë, devrait avoir une action moindre sur une prolifération gliale débutant autour de la naissance.

A nouveau, le problème a été principalement résolu en termes de quantité de DNA, mais les résultats sont plus contradictoires que pour la sous-nutrition postnatale (chap. III, 10.3.2.). ZAMENHOF et al. (1968; 1973) ont montré que le cerveau de petits nés de mère mal nourrie contenait moins de DNA à la naissance, et en ont conclu que l'acquisition neuronale était significativement altérée par la carence durant la gestation. ZEMAN et

STANBROUGH(1969) sont arrivés à des résultats similaires à 16, 18 et 20 jours de gestation. PATEL et al. (1973) ont établi que la sous-nutrition maternelle durant la gestation (2ème semaine) et la lactation, produisait un déficit en DNA de 12% pour le cerveau séparé du cervelet à 21 jours postnatal, mais pas à la naissance; cela proviendrait du fait que la vitesse de dépôt du DNA prise comme indice d'acquisition cellulaire est gravement atteinte par la carence, mais pas autant que l'indice d'activité mitotique (incorporation de thymidine H_3*). AHMAD et RAHMAN (1975) ont démontré au contraire que le cerveau de rats nés de mère mal nourrie ne contient pas une quantité de DNA significativement différente de celle des témoins à la naissance, et que si la malnutrition maternelle se poursuit durant la lactation, l'effet sur le DNA cérébral de la progéniture est le même que celui produit par une sous-nutrition modérée des petits.

Nous n'allons pas reprendre toute la discussion concernant les rapports DNA/nombre de cellules dans le cerveau en développement, car les arguments ne changent pas avec la forme de carence appliquée (cf. chap. III, 10.3.2.). Au niveau du cortex cérébral, nous-même avons fait les constatations suivantes avec l'évaluation quantitative du volume cortical et des nombres totaux de cellules (7.) : à 10 jours, le nombre de neurones est plus élevé ($\sim$ 20%) dans un volume cortical plus petit ($\sim$ 20%) chez la progéniture de mère mal nourrie. Cette situation est analogue, bien qu'à peine moins grave, à celle de la sous-nutrition postnatale; après 10 jours, le nombre de neurones diminue (mort neuronale) et le volume cortical croît, comme dans la maturation normale (chap. II, 10.2.), mais à un degré moindre, assez proche de ce que nous avons trouvé chez les animaux sous-alimentés après la naissance; à 180 jours toutefois, le volume cortical est encore un peu inférieur mais le nombre de neurones ne montre plus de différence significative par rapport aux témoins, situation à nouveau analogue à celle de la sous-nutrition postnatale (chap. III; 10.3.2.).

Il semble ainsi sur la base de nos résultats, que la prolifération neuronale corticale ne soit pas freinée durant la gestation par la carence maternelle (degré de carence trop faible ou protection foetale par l'intermédiaire du métabolisme maternel), puisque la population neuronale à 10 jours postnatal, loin d'être réduite, est au contraire plus élevée. Il doit donc exister entre la naissance (ou légèrement avant) et 10 jours, une diminution de la mort neuronale physiologique, en rapport avec le freinage de croissance du neuropile qui existe à ce moment-là (10.3.3.). C'est également l'hypothèse proposée par PATEL et al. (1973), pour expliquer que le DNA total soit moins réduit que le taux d'acquisition cellulaire dans leurs résultats. Cette hypothèse a cependant été réfutée par LEWIS (1975), LEWIS et al. (1975), qui suggèrent que ce n'est pas le taux de perte cellulaire qui est réduit, mais la longueur du cycle mitotique qui augmente, expliquant ainsi que la multiplication cellulaire soit touchée dans le cerveau des petits de mère mal nourrie. Nos résultats vont plutôt dans le sens de l'hypothèse de PATEL et al. (1973), mais il nous faut insister encore une fois sur la difficulté de comparer des résultats obtenus sur le télencéphale in toto et sur une région déterminée comme le cortex cérébral.

Le déficit dans la prolifération cellulaire devrait être surtout glial si le nombre de neurones n'est pas réduit à la naissance. C'est en effet ce que nous constatons dans notre évaluation quantitative : à 10 jours, le nombre de cellules gliales est de 20% inférieur à celui des témoins et de 10% supérieur à celui des animaux carencés de notre première expérience; à 180 jours, le déficit est encore de 9% en dépit des différences non significatives à 30 et à 60 jours.

Toutefois la population gliale ne représente que le 30-40% de la population neuronale dans le cortex cérébral. Si le DNA représente la quantité totale de cellules, il est alors difficile de comprendre comment, au début du développement, un déficit glial de 20% peut compenser un nombre de neurones trop élevé de 20% environ. A 180 jours en revanche, le nombre de

neurones n'est plus trop élevé et le déficit cellulaire persistant de 10% environ peut être dû aux cellules gliales.

L'estimation histologique quantitative de SIASSI et SIASSI (1973), dans le cortex d'animaux nés de mère mal nourrie, n'indique ni réduction de la population neuronale, ni augmentation au début du développement, mais établit par contre une diminution du nombre de cellules gliales; ce dernier fait est curieux, car la prolifération gliale débute normalement autour de la naissance et la carence appliquée par ces auteurs cesse justement à ce moment-là. Notre observation est ainsi la seule à faire état d'une réduction du taux de mort neuronale physiologique accompagnée d'une réduction de la prolifération gliale, comme conséquence d'une carence maternelle durant la gestation et la lactation.

10.3.3. Neuropile.

Le retard de maturation dans le cortex cérébral de la progéniture de mère mal nourrie est moins grand que celui des animaux sous-alimentés après la naissance; il s'exprime par une densité trop élevée dans les aires 10, 4, 3 et 17, corrélée elle-même au début du développement avec un délai de la mort neuronale physiologique (10.3.1., 10.3.2.). A 180 jours, le nombre total de neurones est normal, mais la densité neuronale est toujours trop élevée sauf dans l'aire 17. Ce retard doit se retrouver au niveau de l'évolution du neuropile et nous pouvons nous attendre que ce dernier soit moins atteint que dans la sous-nutrition postnatale.

C'est en effet ce que nous avons démontré dans les couches III et V de l'aire 17 où, à tous les âges étudiés, le nombre d'épines et d'intersections dendritiques est moins réduit chez les petits de mère mal nourrie (8.2., 8.3., 8.4.). Ce phénomène se manifeste dès le début du développement, puisqu'à 10 jours,

dans tous les cortex examinés, nous avons trouvé des cellules pyramidales révélant des épines sur le dendrite apical et un plexus dendritique quantifiable comme chez les témoins. La dynamique de synaptogénèse semble ainsi commencer normalement et n'être que peu diminuée, puisque le nombre d'épines est inférieur de 10-20% seulement et le nombre de dendrites de 10% environ. Cela nous fournit une raison supplémentaire de penser que la carence in utero n'a pas dû être assez importante pour freiner le tout début de la croissance du neuropile; cette dernière est en revanche davantage freinée entre 10 et 15 jours, puisque le déficit par rapport aux témoins est plus grand à 15 jours qu'à 10 jours ($\sim$30%). Dans la suite du développement, des différences avec les animaux normaux persistent mais vont en se réduisant jusqu'à 60 et 180 jours. Tout se passe comme si la malnutrition maternelle produisait une sous-nutrition modérée chez les petits et permettait une meilleure maturation de l'écorce que la sous-nutrition postnatale dès la naissance, diminuant cependant le taux de croissance du neuropile et freinant l'éloignement de la zone de branchement maximum du périkaryon. Néanmoins à partir de 60 jours la récupération est partielle, et à 180 jours, on peut dire qu'elle est bonne. En effet, le nombre d'intersections dendritiques dans les deux couches est semblable à celui des témoins, les courbes de branchement dendritique en fonction de la distance au périkaryon se superposent parfaitement, et le nombre d'épines n'est plus que faiblement diminué par rapport aux témoins ($\sim$10%), la différence n'étant pas significative pour les dendrites de diamètre supérieur à 1,5 microns dans la couche V. Dans cette couche, nous avons trouvé un nombre de dendrites similaire dans les deux catégories de diamètre à partir de 30 jours, comme dans le cas normal, tandis que dans la couche III nous avons toujours trouvé une proportion plus forte de dendrites de faible calibre, ce qui nous autorise à dire que la croissance du diamètre dendritique dans cette couche est atteinte (chap. II, 8.1.). En résumé, après une longue période de réhabilitation nutritionnelle, le cortex cérébral de la progéniture de mère mal nourrie montre encore un léger déficit au niveau des épines dendritiques, mais non au niveau des branchements dendritiques. Le "pattern"

de connectivité doit ainsi être proche du cas normal; cependant, si l'on considère que les épines représentent des sites postsynaptiques importants, un manque dans ce domaine doit signifier une diminution des afférences et doit retentir sur le fonctionnement de l'écorce (10.5.). Ce résultat est important car les études quantitatives que nous connaissons ne comportent pas une aussi large période de réhabilitation nutritionnelle. GAMBETTI et al. (1974) ont démontré en ultrastructure, une diminution du neuropile de 7,4%, dans la couche V de rats âgés de 24 jours ayant subi le même type de déprivation que celle de nos animaux. Il est difficile de comparer des résultats sur deux types de préparations aussi différentes que le Golgi et l'ultrastructure, mais notre estimation donne un déficit un peu plus élevé, 20% pour les épines et 10% pour les intersections de dendrites. En revanche, nous sommes plus proche de l'estimation de WEST et KEMPER (1976), dont l'expérience est tout à fait analogue à la nôtre sur une moins longue durée (malnutrition de la mère dès avant la gestation et jusqu'à la fin de la lactation, animaux tués à 30 jours postnatal, cortex occipital examiné quantitativement au Golgi); le déficit en épines est de 17% sur le dendrite apical des pyramides de la couche III, où nous-même trouvons environ 20%.

Il n'y a à notre connaissance pas d'autre étude quantitative du cortex d'animaux nés de mère mal nourrie, hormis les tout récents travaux de DYSON et JONES (1976), JONES et DYSON (1976), en ultrastructure, montrant que la qualité de la synapse (épaississements pré et postsynaptiques) est altérée, et que le nombre de synapses de type immature est plus grand chez l'animal carencé, même réhabilité jusqu'à 4 mois. Nous nous étions demandée à propos de la sous-nutrition postnatale (chap. III, 10.3.3.), si les synapses étaient lésées dans leur structure et par conséquent plus fragiles. Il semble donc bien que ce soit le cas (avec les réserves dues aux différences de méthode) lorsqu'intervient une carence nutritionnelle.

Enfin, nous avons constaté avec étonnement que le nombre d'épines ne diminuait pas entre 60 et 180 jours dans le cortex cérébral de la progéniture de mère mal nourrie, comme dans celui des témoins et des animaux sous-alimentés après la naissance, mais au contraire augmentait légèrement. La dynamique corticale

pourrait être un peu différente ou les processus de récupération meilleurs que dans la sous-nutrition postnatale (10.4.).

10.4. Irréversibilité des phénomènes.

Nous pouvons cette fois nuancer notre jugement, et dire que si les effets de la sous-nutrition maternelle sont graves au début du développement, ils ne sont de toute évidence pas totalement irréversibles. Comme dans la sous-nutrition postnatale, nous avons étudié une période qui ne couvre en fait qu'un quart à un tiers de l'existence de notre souche de souris; mais à l'intérieur de cette période se produisent un certain nombre de processus qui témoignent d'une prolongation de la maturation corticale et d'un certain degré de récupération à 180 jours.

Dans l'aire 17, les densités neuronales et le neuropile ont même retrouvé des valeurs quasi normales. La différence avec les témoins n'est guère significative que pour le nombre d'épines sur le dendrite apical, et encore n'est-ce pas le cas des dendrites de gros calibre dans la couche V. Notons que cette concordance de récupération constitue une preuve supplémentaire de la bonne corrélation existant entre la diminution de densité neuronale et la croissance du neuropile. Contrairement à ce qui se passe dans la sous-nutrition postnatale, la période entre 60 et 180 jours manifeste donc une diminution de la densité neuronale et une augmentation du nombre d'épines, en tous les cas dans l'aire 17, alors que les "patterns" de branchement dendritique autour du périkaryon sont déjà analogues à ceux des témoins à 60 jours.

Il faut remarquer toutefois que dans les autres aires étudiées (10, 4 et 3), si la densité neuronale décroît entre 60 et 180 jours, la différence avec les témoins est encore significative à 180 jours; ce phénomène est curieux, car aussi bien chez les animaux normaux que sous-alimentés après la naissance, nous n'avons pas observé de comportement différent pour ces quatre

aires. Il est connu que l'aire 17 (visuelle) réagit plus que les aires motrices à l'influence du milieu (enrichissement, appauvrissement) même chez les animaux aveugles, DIAMOND et al. (1964), ROSENZWEIG et al. (1969), SHAPIRO et VUKOVICH (1970), GREENOUGH et al. (1973), etc. C'est pourquoi elle est considérée d'une certaine manière comme une aire multisensorielle, GLOBUS et al. (1973). La convergence de multiples influx pourrait jouer un rôle dans ses possibilités de récupération, ou en tout cas se combiner avec la réhabilitation nutritionnelle. Cela expliquerait alors à 180 jours une densité neuronale plus élevée de 5-10% dans les aires 10, 4 et 3.

De toute manière, l'augmentation du nombre d'épines après 60 jours se justifie mal, si nous maintenons l'hypothèse que la maturation des connexions peut se faire à ce moment-là par perte sélective de synapses (chap. II, 10.4.). Il existerait donc une autre possibilité, celle de la création de nouvelles synapses, et les deux mécanismes pourraient ne pas être incompatibles. Ce phénomène remet aussi en question l'idée que nous nous faisions de la dynamique corticale des animaux sous-alimentés et de l'impossibilité de retrouver des valeurs optimales à partir d'un certain moment (chap. III, 10.4.). Ce que nous observons chez la progéniture de mère mal nourrie indique, en effet, que lorsque la carence est modérée, certaines possibilités de récupération subsistent après la fin de la période critique. Les dommages persistant au niveau du volume cortical et de la population gliale ainsi qu'au niveau de la densité neuronale dans les aires 10, 4 et 3, montrent que cette récupération n'est que partielle; cependant, comme aucun processus ne semble s'arrêter ou décroître entre 60 et 180 jours, au contraire de la sous-nutrition postnatale, il n'est pas impossible que l'on assiste à une prolongation très lente de la récupération après 180 jours.

10.5. Corrélations fonctionnelles.

Un certain nombre de travaux portent sur les conséquences biochimiques, électrophysiologiques et comportementales de la malnutrition maternelle. Nous pouvons de nouveau tenter de trouver quelques corrélations avec nos propres résultats d'histologie quantitative, en dépit des différences de méthode et malgré le fait que ces études concernent le télencéphale in toto.

10.5.1. Corrélations biochimiques.

Nous avons déjà discuté les rapports DNA/nombre de cellules (10.3.2.). Les auteurs cités ont généralement aussi dosé RNA et protéines et trouvé une diminution moins importante que lors d'une sous-nutrition aiguë après la naissance; si la carence n'a lieu que durant la gestation, ces composés retrouvent même des valeurs normales. Dans la mesure où la quantité de RNA et de protéines peut être mise en relation avec la taille nucléaire et cellulaire, ainsi qu'avec l'extension du réseau dendritique et synaptique, nous avons effectivement montré que ces éléments sont beaucoup moins atteints par la malnutrition maternelle que par la sous-nutrition postnatale. Plus curieux est le phénomène démontré par LEE (1970) : non seulement la biosynthèse du RNA et des protéines est réduite dans le cerveau des petits de mère mal nourrie, mais des différences marquées existent dans la qualité des protéines solubles, suggérant une altération de la structure génétique.

Pour PATEL et al. (1973), comme pour DICKERSON et PAO (1975), il y a chez la progéniture de mère mal nourrie un problème au niveau de la mise à disposition du pool précurseur de glucose, nécessaire à la synthèse protéique et bien sûr à la construction des "patterns" de connexions. CHOW (1974) a du reste aussi décrit des phénomènes d'intolérance au glucose chez la progéniture de mère mal nourrie.

Un élément plus proche de notre sujet d'intérêt - réseau sy-

naptique dans le cortex de la progéniture de mère mal nourrie - est constitué par le taux des différents neurotransmetteurs et enzymes associées, stockés et libérés au niveau des synapses. Pour ADLARD et DOBBING (1971; 1972) et pour GAMBETTI et al. (1972) l'activité de la cholinacétylase et de la cholinestérase est diminuée durant la carence, mais revient ensuite à la normale et peut même être augmentée par rapport aux témoins. Nous avons déjà signalé au chapitre III (10.5.1.) qu'il s'agit pour ces auteurs d'une relative épargne des terminaisons synaptiques au détriment d'autres structures. SMART et al. (1976) démontrent, quant à eux, une augmentation de la synthèse de la sérotonine dans des conditions analogues. Ces résultats doivent nous inciter à une certaine prudence dans les corrélations entre les domaines morphologique et fonctionnel. Il n'y a en effet pas d'épargne morphologique des synapses : nous avons montré un déficit quantitatif (8.) confirmé par GAMBETTI et al. (1972) en ultrastructure, et les observations de DYSON et JONES (1976), JONES et DYSON (1976), prouvent que l'organisation structurelle de la synapse est atteinte par la dénutrition. De plus, ECKHERT et al. (1976), étudiant aussi l'acétylcholinestérase et la cholinacétyltransférase, ont attiré l'attention sur le fait que l'activité enzymatique pouvait varier non seulement selon la région cérébrale, mais pour une même région, selon la période de carence.

En revanche, SHOEMAKER et WURTMAN (1973), puis RAMANAMURTHY (1977), ont rapporté que le contenu en catécholamines cérébrales est diminué chez la progéniture de mère mal nourrie. Pour les premiers, le déficit n'est pas dû à un manque d'enzymes et de précurseurs, mais plutôt à un mécanisme central de rétention catécholaminergique. Cependant les acides aminés précurseurs des neurotransmetteurs, phénylalanine et tyrosine pour la dopamine et la noradrénaline, et tryptophane pour la sérotonine, doivent être en quantité réduite dans une alimentation carencée quelle qu'elle soit. FERNSTROM et LYTLE (1976) ont démontré que le contenu en sérotonine chez des rats mal nourris est plus influencé par le taux de tryptophane que par celui des enzymes de biosynthèse.

Nous ne pouvons guère corréler vraiment ces résultats avec les nôtres, mais plutôt les juxtaposer pour avoir une vision plus synthétique des effets cérébraux et corticaux de la carence maternelle. Une réduction du nombre de connexions entre neurones (dendrites) et de sites postsynaptiques (épines) peut très bien être combinée avec un moins bon fonctionnement des synapses existantes, notamment au niveau des transmetteurs. Rappelons toutefois qu'après une longue période de réhabilitation nutritionnelle, le déficit que nous observons n'est plus très grand (10.3.3.) et nous ne savons pas ce qui se passe alors au niveau biochimique.

10.5.2. Activité électrique.

Si la corticogénèse des jeunes animaux est moins atteinte par la malnutrition modérée de la mère qu'elle ne l'est par une période de sous-nutrition postnatale, nous devrions retrouver ce phénomène au niveau de l'activité électrique concomittante. Nous pouvons citer à ce sujet deux travaux qui vont effectivement dans ce sens. FORBES et al. (1975) ont montré que le temps de latence des réponses évoquées transcalleuses est plus grand chez la progéniture de mère mal nourrie à 13 et 21 jours, mais non plus à 60 jours, après réhabilitation nutritionnelle. Avec une expérience du même type, GRAMSBERGEN (1976) relève que si la maturation de l'EEG est différée de 2-3 jours, à 18 jours postnatal en revanche, la différence avec les témoins ne se remarque plus. Rappelons qu'une telle réhabilitation n'existait pas dans la sous-nutrition postnatale (chap. III, 10.5.2.).

Ainsi, au niveau de paramètres comme les potentiels évoqués corticaux ou l'EEG, plus faciles à corréler avec l'organisation morphologique de l'écorce telle que nous l'avons étudiée, nous voyons qu'existe une certaine cohérence de résultats, confirmant que la malnutrition maternelle a des conséquences moins graves pour les petits que la sous-nutrition postnatale.

0.5.3. Comportement.

La dénutrition maternelle provoque également certains effets sur le comportement des petits, mais les différents travaux, à nouveau, ne permettent pas toujours de dégager des tendances homogènes. De plus, comme pour la sous-nutrition postnatale (chap. III, 10.5.3.), l'accent est souvent mis sur des facteurs émotionnels et non nutritionnels. En particulier la carence provoquerait chez la mère un comportement maternel perturbé, FRANKOVA (1971; 1974), en favorisant la minimisation de l'interaction des petits avec l'environnement, MASSARO et al. (1974). Ce facteur serait à lui seul susceptible d'induire, selon les auteurs, un retard de développement psychomoteur. En effet, RIDER et SIMONSON (1973) relèvent que si la mère est sous-alimentée tout en ayant une ration protéique normale, les troubles de comportement chez les petits sont beaucoup moins prononcés. Puisque selon MILLER (1970) ce n'est pas la qualité du lait qui varie, il est possible que ce soit la qualité de l'attitude maternelle.

Les tests de comportement (labyrinthe, évitement d'un choc électrique, discrimination spatiale, coordination motrice) donnent des résultats parfois contradictoires, particulièrement si un aliment est accordé en récompense (chap. III, 10.5.2.). De manière générale, les petits de mère carencée durant la gestation uniquement, obtiennent des scores meilleurs que ceux de mère carencée durant la lactation seulement, mais moins bons que ceux qui sont sous-alimentés par l'intermédiaire de la mère durant toute la gestation et la lactation : CALDWELL et CHURCHILL (1967), SMART et DOBBING (1971), CHOW (1974), RANDT et DERBY (1973), SMART et al. (1973; 1975; 1976), LEATHWOOD et MAURON (1974), SYKES et CHEYNE (1976), etc. Lorsque plusieurs types d'expériences sont conduits en parallèle, ce sont toujours les animaux sous-alimentés après la naissance, par compétition ou par séparation de la mère, qui sont les plus atteints, CHOW (1974), LEATHWOOD et MAURON (1974), SYKES et CHEYNE (1976).

Ce fait peut être mis en relation avec nos propres résultats, puisque le cortex cérébral est plus gravement endommagé après une sous-nutrition postnatale aiguë que lorsque la mère est mal nourrie durant toute la gestation et la lactation. Cependant le comportement des animaux dénutris fait intervenir d'autres structures que le cortex cérébral, et nous ne pouvons pas analyser mieux le phénomène (chap. III, 10.5.3.).

CHAPITRE V

CONSIDERATIONS GENERALES

1. INTRODUCTION.

Nous avons étudié dans les chapitres III et IV deux formes d'atteinte nutritionnelle et leurs conséquences sur le développement cortical. Dans une certaine mesure nous avons déjà comparé dans le chapitre IV les effets de la carence maternelle avec ceux de la sous-nutrition postnatale. Nous allons cependant tenter une brève synthèse portant sur les principaux aspects de nos expériences.

2. COMPARAISON DES EFFETS DE LA SOUS-NUTRITION POSTNATALE ET DE LA MALNUTRITION MATERNELLE.

2.1. Rappel méthodologique.

Nous avons opté à dessein pour deux modèles de carence nutritionelle, dissemblables tant par leurs modalités d'intervention que par la période de développement qu'ils recouvrent. Nous savons en effet que la maturation corticale normale (chap. II) est constituée de plusieurs phases durant lesquelles prennent place des processus différents. De surcroît ces phases ne manifestent pas la même vulnérabilité aux influences de l'environnement.

Nous avons longuement analysé (chap. I, 3.) les différences et similitudes de nos deux méthodes en insistant sur leurs avantages et inconvénients. La méthode de sous-nutrition postnatale, qui a des effets immédiats, produit sur les petits une carence importante par restriction du lait maternel à disposition. Elle est limitée à la période de croissance cérébrale rapide chez la souris (0-21 jours) et la réhabilitation ad libitum

se poursuit jusqu'à la fin de l'expérience (180 jours). Par comparaison, la malnutrition protéique de la mère induit chez la progéniture une carence plus modérée durant la même période (0-21 jours) en réduisant la quantité de lait maternel. Elle débute par contre plus tôt, mais nous avons vu qu'une protection foetale existe au détriment de la mère durant la vie prénatale. La carence n'est pas uniquement protéique chez les souriceaux; néanmoins, même lors d'un déficit calorique, c'est le déficit protéique qui joue un rôle primordial en période de croissance (chap. I, 3.6.).

Chez l'humain, il n'existe pratiquement jamais de déficit strictement protéique, mais on trouve plutôt tous les degrés de déficience protéino-calorique. A cet égard, nos deux expériences fournissent des modèles adéquats. Nous verrons plus loin qu'il est toutefois difficile d'extrapoler à l'homme des résultats obtenus chez la souris (4.).

2.2. Croissance des animaux.

Le pic de croissance cérébrale rapide (0-21 jours postnatal) précède normalement celui de croissance corporelle (21-35 jours postnatal) (chap. II, 2.). Dans nos deux séries expérimentales, la croissance des animaux est diminuée sur les deux plans (chap. III, 2.;chap. IV, 2.).

La sous-nutrition postnatale restreint la croissance physique des souriceaux de manière plus considérable que la carence protéique de la mère, car le déficit nutritionnel est quantitativement plus important. La carence maternelle en revanche provoque déjà une légère diminution de poids durant la vie foetale, avec un déficit significatif de 9% à la naissance. Lorsque commence la période de réhabilitation, la récupération de la progéniture de mère mal nourrie est aussi meilleure que celle des petits sous-alimentés après la naissance. Elle est même complète si l'on attend suffisamment longtemps (180 jours), ce qui n'est pas le cas dans la sous-nutrition postnatale.

Le phénomène est similaire pour la croissance cérébrale : les petits de mère mal nourrie sont moins atteints que les souriceaux sous-alimentés après la naissance et leur récupération est meilleure après le sevrage. Cependant, elle n'est pas totale et un déficit de 14% subsiste à 180 jours; ce dernier est de 26% dans la sous-nutrition postnatale.

Si la récupération physique est plus importante que la récupération cérébrale, c'est que la réhabilitation nutritionnelle couvre toute la période de croissance corporelle rapide (21-35 jours), alors qu'elle débute seulement à la fin du pic de croissance cérébrale (0-21 jours). Or nous savons que c'est durant cette période que la vulnérabilité est la plus grande et que certaines potentialités de maturation peuvent se réaliser de façon optimale. Le cortex cérébral n'échappe pas à cette règle fondamentale du développement (2.3.).

.3. Développement cortical.

Le développement cortical est gravement atteint dans nos deux séries expérimentales. A nouveau les animaux sous-alimentés entre 2 et 21 jours postnatal manifestent des dégâts plus importants et récupèrent moins bien que la progéniture de mère mal nourrie. Une grande cohérence existe dans les résultats puisque ce phénomène se retrouve au niveau de tous les paramètres étudiés : densité neuronale, intersections et épines dendritiques, volume cortical, populations neuronales et gliales totales. De manière générale, les valeurs trouvées dans le cortex des petits de mère mal nourrie sont toujours situées entre celles des témoins et celles des animaux carencés après la naissance. Il semble que la malnutrition maternelle n'ait pas eu d'effet sur le développement cortical au cours de la gestation. Durant la période critique du développement cérébral, les animaux subissent alors une dénutrition sévère (chap. III), ou modérée (chap. IV), avec des conséquences proportionnelles au degré de carence. Nous n'allons pas reprendre en détail chaque processus mais deux paramètres particulièrement bien corrélés : la densité

neuronale et le neuropile dans l'aire visuelle 17.

2.3.1. Densité neuronale.

Ce qui caractérise le cortex cérébral des animaux carencés est une plus forte densité cellulaire (fig. 42). A 10 jours, le phénomène est patent pour les petits sous-alimentés postnatalement et pour les petits de mère mal nourrie, quoique moins prononcé pour ces derniers. La structure de l'écorce en revanche, ressemble à celle d'animaux plus jeunes (fig. 12, chap.I), mais n'a pas subi de modification fondamentale ou de désorganisation. A 30 jours, la différence avec les témoins est encore évidente, surtout pour les petits sous-alimentés postnatalement; à 60 et à 180 jours cependant, il est difficile de discerner le cortex normal.

En neuropathologie classique, il est connu qu'un déficit ou une augmentation de densité de moins de 25-30% est difficilement décelable sans méthode quantitative. Les densités neuronales* comptées dans toutes les couches le confirment (fig. 43). A 60 et à 180 jours, l'augmentation par rapport aux témoins est de 20-30% chez les animaux sous-alimentés après la naissance et de moins de 20% chez la progéniture de mère mal nourrie.

A tous les âges étudiés, l'augmentation de densité neuronale par rapport aux témoins est plus importante chez les animaux ayant subi une carence aiguë entre 2 et 21 jours. Cette augmentation est en fait une "non-diminution" puisque la densité neuronale décroît fortement au cours du développement, processus corrélé avec la croissance du neuropile (chap. II, 9.). Une "non-diminution" de densité neuronale témoigne ainsi d'un retard de maturation qui, à un âge donné, est toujours plus grand dans le cortex des animaux sous-alimentés après la naissance que dans celui de

*En raison d'une densité gliale relativement stable au cours du développement et variant peu chez les animaux carencés, la densité neuronale est représentative de la densité cellulaire.

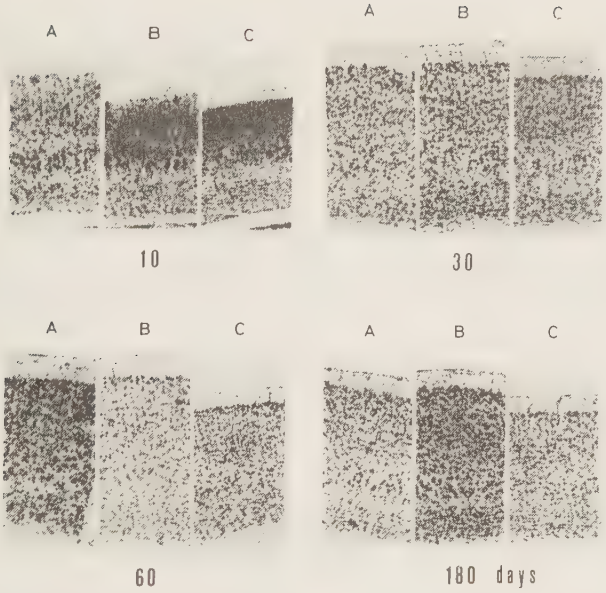


Figure 42 : Comparaison des effets de la sous-nutrition postnatale et de la malnutrition maternelle sur le cortex cérébral; aire visuelle 17, à 10, 30, 60 et 180 jours.

A : témoin
B : sous-nutrition postnatale
C : malnutrition maternelle

Paraffine, 25 microns; Crésyl violet
Obj. : Zeiss planapochromat 4 X / 0.16
Ocul. : Proj. ultraphot II
Grossissement du négatif : 10 X
Grossissement final : 40 X

A 10 jours l'augmentation de densité cellulaire est évidente, surtout chez les petits sous-alimentés postnatalement; à 30 jours, elle est encore visible, mais à 60 et 180 jours, elle est difficilement discernable.

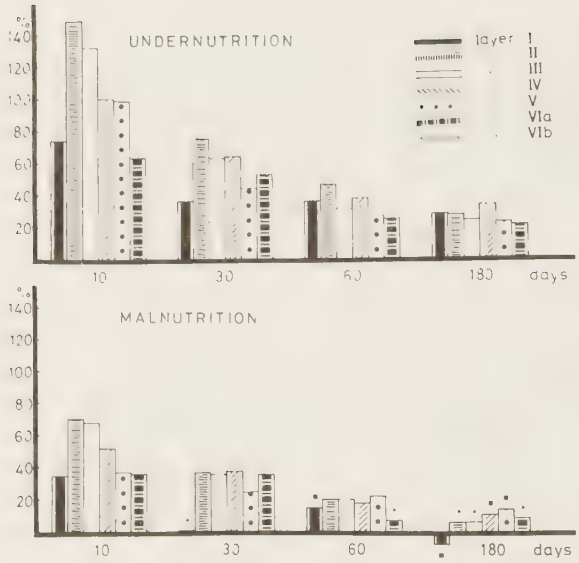


Figure 43 : Comparaison des effets de la sous-nutrition postnatale et de la malnutrition maternelle sur la densité neuronale à 10, 30, 60 et 180 jours.

Les valeurs sont exprimées ici en % d'augmentation par rapport aux témoins. Le degré de significativité a été calculé non sur les % mais sur les valeurs comptées et corrigées selon la formule d'ABERCROMBIE (1946) (fig. 22, chap. III et fig. 33, chap, IV). Toutes les différences sont significatives à 0,001 sauf celles qui sont indiquées : ▲ = n.s. et ■ = $p < 0,05$.

A chaque âge, l'augmentation de densité est plus grande dans le cortex des animaux sous-alimentés après la naissance que dans celui des petits de mère mal nourrie. Une récupération certaine a lieu dans les deux cas; elle est bien meilleure chez la progéniture de mère mal nourrie, puisqu'à 180 jours les différences dans toutes les couches ne sont plus que peu ou pas significatives.

la progéniture de mère mal nourrie (fig. 43). Il atteint jusqu'à 100-150% suivant les couches à 10 jours pour les souriceaux sous-alimentés postnatalement, mais seulement jusqu'à 50-80% pour les petits de mère mal nourrie. Un degré de récupération a lieu dans les deux séries expérimentales; il est plus grand chez la progéniture de mère mal nourrie, qui à 180 jours, présente avec les témoins des différences peu ou non significatives.

.3.2. Neuropile.

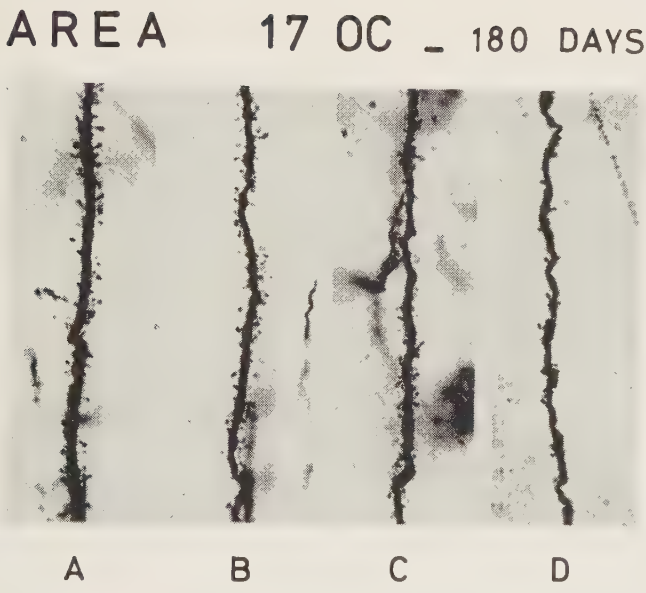
Nous avons vu à plusieurs reprises que la diminution de densité neuronale dans l'écorce est corrélée entre autres avec l'accroissement du neuropile (chap. II, III, IV). Ce dernier a été quantifié dans les couches III et V au niveau des épines sur le dendrite apical et des intersections dendritiques autour du périkaryon. Ces deux éléments, représentatifs de la connectivité corticale, manifestent, au contraire de la densité neuronale, un déficit chez nos animaux carencés. Ce déficit représente en fait un "non-accroissement". A nouveau, l'atteinte est plus importante chez les souriceaux sous-alimentés après la naissance que chez les petits de mère mal nourrie (fig. 44-46).

Dans le développement normal, l'augmentation maximale du nombre d'épines et d'intersections dendritiques se fait entre 10 et 21 jours, pic légèrement décalé par rapport à la diminution de densité neuronale (chap. II, 8.). Dans la sous-nutrition postnatale, le cortex est très pauvre en connexions à 10 jours; le déficit en épines atteint 80% environ (fig. 45), tandis que celui des intersections dendritiques se situe autour de 30-40% (fig. 46). Le neuropile augmente toutefois en dépit de la sous-nutrition et une certaine récupération se fait après 21 jours. A 180 jours, il subsiste néanmoins un manque de 10-20% dans le nombre d'intersections dendritiques et de 30% environ dans le nombre d'épines dendritiques.

Pour ces deux paramètres la situation est bien meilleure chez la progéniture de mère mal nourrie. L'accroissement du nombre

d'épines sur le dendrite apical ainsi que du nombre d'intersections dendritiques autour du périkaryon est beaucoup moins freiné que dans la sous-nutrition postnatale (fig. 45 et 46). A chaque âge, les différences par rapport aux témoins sont inférieures à celles des animaux sous-alimentés après la naissance. Certaines valeurs sont même non significatives, à 10, 21 et 60 jours, et surtout à 180 jours, où le nombre d'intersections dendritiques est équivalent à celui des témoins. Par ailleurs à 180 jours, le déficit dans le nombre d'épines est de moins de 10%.

On peut donc considérer que ces valeurs corroborent pleinement celles de la densité neuronale (2.3.1.) : la progéniture de mère mal nourrie, au contraire des animaux ayant subi une sous-nutrition postnatale aiguë, manifeste un retard modéré dans son développement cortical; ce retard est en grande partie rattrapé en cinq mois de réhabilitation nutritionnelle, alors que ce n'est pas le cas de la sous-nutrition postnatale.



gure 44 : Comparaison des effets de la sous-nutrition postnatale et de la malnutrition maternelle sur le cortex cérébral à 180 jours; dendrite apical (Ø> 1,5 microns) de cellules pyramidales de la couche V, au niveau de la couche IV.

A: témoin
B: malnutrition maternelle
C: sous-nutrition postnatale
D: sous-nutrition postnatale

Celloïdine, 100 microns; Golgi-Cox-Van der Loos
Obj. : Zeiss planapochromat 100 X / 1.3, immersion
Ocul. : Proj. ultraphot. II
Grossissement du négatif : 1000 X
Grossissement final : 650 X

Les épines dendritiques sont bien visibles, mais la photographie n'en révèle pas toute la richesse, en raison du manque de profondeur. Le déficit peu important chez la progéniture de mère mal nourrie ne se remarque pas (B). Dans la sous-nutrition postnatale, deux cas se présentent : déficit peu marqué (C) ou très important (D).

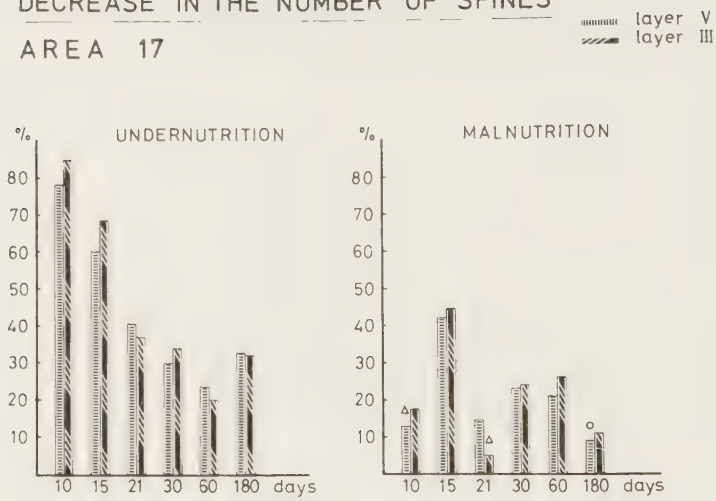
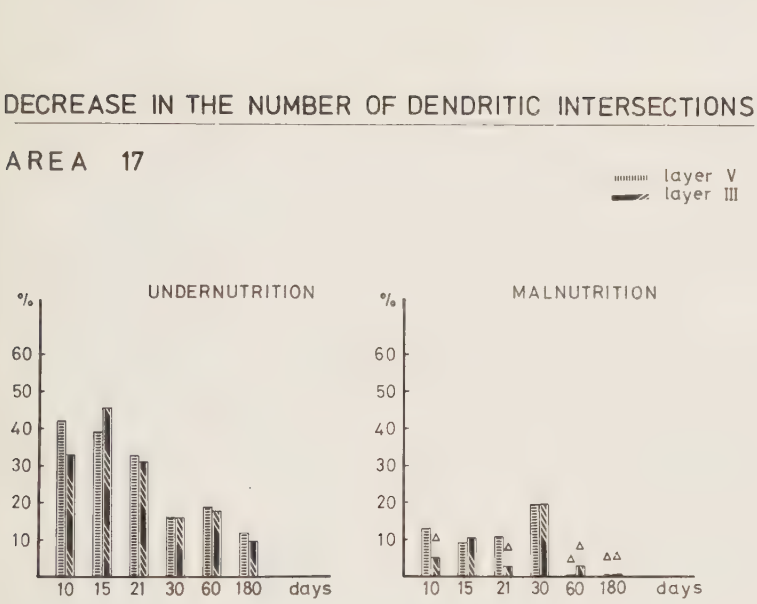


Figure 45 : Comparaison des effets de la sous-nutrition postnatale et de la malnutrition maternelle : nombre d'épines sur le dendrite apical des couches V et III dans l'aire visuelle 17.

Les valeurs sont exprimées en % de diminution par rapport aux témoins, et, pour des besoins de synthèse, en fonction de valeurs comptées sur les deux catégories de dendrite apical (diamètre < 1,5 microns ou entre 1,6 et 3 microns). Le degré de significativité n'a pas été calculé sur les % mais sur les valeurs réelles; les différences sont significatives à 0,001 sauf si elles sont indiquées : Δ = n.s. et O = $p < 0,05$.

Dans la sous-nutrition postnatale, le déficit est considérable dès le début de la maturation; il est partiellement rattrapé, mais subsiste autour de 30% malgré la réhabilitation nutritionnelle. Chez la progéniture de mère mal nourrie, la différence avec les témoins est beaucoup moins grande à chaque âge et la récupération à 180 jours est bien meilleure.



igure 46 : Comparaison des effets de la sous-nutrition postnatale et de la malnutrition maternelle : nombre d'intersections dendritiques autour du périkaryon dans les couches V et III de l'aire visuelle 17.

Les valeurs sont exprimées en % de diminution par rapport aux témoins. Le degré de significativité a été calculé non sur les % mais sur les valeurs comptées (fig. 29 chap. III et fig. 40, chap. IV). Toutes les différences sont significatives à 0,001 sauf celles qui sont indiquées : Δ = n.s. et O = $p < 0,05$.

Le déficit est moins grand que pour le nombre d'épines sur le dendrite apical, mais nous retrouvons le même phénomène : à chaque âge, il est plus important dans la sous-nutrition postnatale que dans la malnutrition maternelle; dans cette dernière forme de carence, la récupération est totale après réhabilitation nutritionnelle.

3. NUTRITION ET VULNERABILITE CORTICALE.

Les conclusions auxquelles nous sommes parvenue avec l'étude de deux formes expérimentales de dénutrition (chap. III et IV) nous permettent, en accord avec de nombreux auteurs, d'attirer l'attention sur l'importance primordiale des facteurs nutritionnels pour le développement cortical.

L'influence de la nutrition sur la construction de l'écorce cérébrale est liée tout particulièrement à l'existence d'une période dite critique pour ce processus, variant selon l'espèce animale par rapport à la vie pré et postnatale. Chez les rongeurs cette période est entièrement postnatale; nous avons tenté de la cerner plus précisément pour les paramètres morphologiques que nous avons étudiés, et démontré que les pics de maturation diffèrent justement en fonction du paramètre envisagé (chap. I). Dans l'ensemble, la maturation corticale de la souris s'effectue de la naissance à 30 jours, avec une vulnérabilité particulière jusqu'à 21 jours; une assez grande plasticité existe encore au-delà de 30 jours.

Une sous-nutrition aiguë entre 2 et 21 jours entraîne alors des conséquences graves et dans une large mesure irréversibles (chap. III, 10.4.). Nous pouvons considérer que la sévérité du déficit nutritionnel a été telle que même la plasticité existant pendant la période de réhabilitation n'a pas permis une restauration des potentialités perdues durant la période vulnérable. Cette dernière est donc bien primordiale pour l'organisation quantitative de l'écorce et l'acquisition des principales connexions. Cependant, lorsque la carence nutritionnelle est moins grave, ce qui est le cas de la progéniture de mère mal nourrie, les conséquences pour le cortex cérébral sont aussi beaucoup moins importantes (chap. IV, 10.4.). Non seulement une plus grande part des processus de maturation normale a lieu malgré la carence, durant la période critique, mais les possibilités de récupération sont ensuite bien meilleures. Remarquons à ce propos, qu'en raison de la plasticité corticale après 30 jours, il faut attendre suffisamment longtemps pour se

prononcer sur l'irréversibilité des dommages causés par la dénutrition. Si nous avions fait cesser notre seconde expérience à 60 jours, nous aurions pu conclure à l'impossibilité pour les petits de mère mal nourrie de rattraper totalement leur retard, alors que la maturation se poursuit entre 60 et 180 jours.

La vie foetale, au contraire des semaines qui suivent la naissance, ne semble pas constituer pour l'écorce une période particulièrement sensible aux influences nutritionnelles; nos observations sur la progéniture de mère mal nourrie (chap. IV) le confirment : il n'y a pas eu d'action de la malnutrition maternelle sur les événements corticaux qui prennent normalement place à ce moment, migration neuronale et mise en place des couches en particulier. Cela ne signifie pas, évidemment, que le cortex soit invulnérable avant la naissance. On connait suffisamment l'influence néfaste des rayons X, BRIZZEE (1967), de l'hypoxie maternelle, SHIVERS et ROOFE (1966), HARA (1975), des facteurs chimiques atteignant la division cellulaire, WEBSTER et al. (1973), de la vitamine A, LANGMANN et WELCH (1966), des facteurs hormonaux, ZAMENHOF et al. (1966), et bien sûr de différents agents toxiques ou infectieux, TUCHMANN-DUPLESSIS (1968). Ce sont cependant tous des facteurs contre lesquels le foetus ne peut être protégé, alors que le métabolisme maternel intervient activement pour le défendre d'un déficit nutritionnel, NAISMITH (1973).

On peut maintenant s'interroger sur les mécanismes d'intervention de la dénutrition au niveau de la maturation corticale. L'une des premières hypothèses concerne le manque direct des composés apportés en partie par l'alimentation (protéines, calories, etc.), nécessaires aussi bien au métabolisme énergétique qu'à la prolifération cellulaire (gliale et capillaire) et à l'édification dendritique. Cette hypothèse est plus que vraisemblable puisque nous savons que la synthèse protéique joue un rôle essentiel dans la croissance cérébrale, MILLER (1970).

Une autre hypothèse, plus éloignée de la nutrition proprement dite, a trait à la réduction du trafic sensoriel chez les animaux carencés. Ceux-ci manifestent en effet un retard dans l'ouverture des yeux et des oreilles (chap. III, 2.2.) et une moindre interaction avec l'environnement (chap. III, 10.5.3.; chap. IV, 10.5.3.). Or les expériences de lésion de structure périphérique, VAN DER LOOS et WOOLSEY (1973), RYUGO et al. (1975a), WELLER et JOHNSON (1975), KILLACKEY et al. (1976) etc., ainsi que les innombrables expériences d'énucléation ou d'éducation dans le noir, GLOBUS et SCHEIBEL (1966; 1967b), VALVERDE (1967; 1968), GAREY et PETTIGREW (1974), RYUGO et al. (1975b), CRAGG (1975b), etc., ont largement démontré à quel point le fonctionnement normal des organes des sens au cours du développement était indispensable à la maturation corticale. D'autre part, les tentatives d'enrichissement de milieu avec des stimulations sensorielles appropriées, SHAPIRO et VUKOVICH (1970), MALKASIAN et DIAMOND (1971), MÖLLGARD et al. (1971), GLOBUS et al. (1973), GREENOUGH et al. (1973), ont permis d'établir que la maturation corticale pouvait également être favorablement influencée par un environnement stimulant. Le manque d'informations sensorielles et d'interaction avec le milieu pourrait donc jouer un rôle additionnel et non négligeable dans le retard de maturation corticale des animaux sous-alimentés. Ce sont cependant les facteurs nutritionnels qui doivent déterminer en premier lieu la mauvaise interaction sensorielle avec l'environnement durant la période critique, ne serait-ce que par le déficit de la croissance des épines dendritiques, principaux sites postsynaptiques accueillant les afférences sensorielles. Le manque d'afférences agirait à son tour en ne stimulant pas la création de nouvelles synapses.

Nous allons voir que ce type d'interaction circulaire joue un rôle encore plus important dans l'espèce humaine (4.).

TENTATIVE D'EXTRAPOLATION A L'ENFANT HUMAIN.

Selon CANOSA (1974), on estime à environ 300 millions dans le monde les enfants d'âge préscolaire affectés à des degrés divers par la malnutrition pré et postnatale. Ce chiffre s'élève également à plus de 100 millions pour DODGE, PRENSKY et FEIGIN (1975), tandis que pour LATHAM (1974), la majeure partie des enfants vivant à l'heure actuelle, souffrent ou ont souffert à un moment donné de leur existence, d'une dénutrition plus ou moins prolongée.

Nous arrivons alors à une question importante : que pouvons-nous tirer de nos deux modèles expérimentaux et de nos résultats pour le grave problème des rapports entre carence nutritionnelle et développement cortical chez l'enfant humain ? Avons-nous le droit, d'un point de vue strictement scientifique, d'extrapoler des conclusions obtenues sur l'écorce cérébrale de la souris ? Les opinions des divers auteurs que nous avons cités sont, à ce sujet, très partagées, même si leurs travaux chez l'animal sont souvent motivés par le désir de comprendre ce qui se passe chez l'homme.

Il est vrai que la souris (ou le rat) apparaît comme un bon modèle expérimental, en raison de la ressemblance de son développement cérébral avec celui de l'humain (chap. I, 3.7.). Rappelons néanmoins qu'il convient surtout de comparer des périodes de maturation comparables, DOBBING (1970), DOBBING et SANDS (1971). Ainsi la phase de croissance rapide, qui débute à la naissance chez la souris, commence déjà au 5-6ème mois de gestation chez l'humain, et se trouve, de ce fait, relativement mieux protégée des influences nutritionnelles dans sa partie foetale. Elle se poursuit cependant jusqu'à la 3ème année postnatale et nombre d'enfants ont un épisode de dénutrition assez long entre la naissance et 3-4 ans, surtout si le sevrage intervient assez tôt, MAURON (1975).

Notre première expérience (sous-nutrition postnatale; chap. III) propose donc un modèle d'atteinte nutritionnelle très sévère

durant toute la période critique du développement cortical. Ce modèle pourrait représenter ce qui se passe dans les cas les plus graves de dénutrition humaine, lorsque l'enfant manifeste des signes cliniques importants, mais qu'il survit après la fin de la période vulnérable. Il ne nous est toutefois pas possible d'émettre comme chez la souris, un pronostic d'irréversibilité sur les conséquences à long terme pour l'écorce cérébrale. Nous allons voir plus loin que des facteurs autres que nutritionnels interviennent pour rendre la situation humaine extrêmement complexe.

Notre seconde expérience (malnutrition maternelle; chap. IV) envisage un modèle probablement plus proche de la réalité humaine; il représente en effet une forme de carence chronique couvrant toute la gestation et la lactation chez la souris, période correspondant chez l'humain, à l'entier de la vie foetale et aux 2-3 premières années de vie. Or, selon LATHAM (1974), pour chaque enfant hospitalisé en raison d'une grave carence nutritionnelle, il en existe 99 autres, qui reçoivent quotidiennement une ration protéino-calorique inadéquate, mais ne révèlent aucun symptôme clinique évident en dehors d'une croissance subnormale. Ce sont ces enfants qui ensuite fourniront les contingents de la population mondiale chroniquement dénutrie. La situation de notre progéniture de mère mal nourrie présente donc quelque analogie avec ce phénomène.

La période foetale semble très protégée chez nos animaux, en dépit de la malnutrition maternelle, et il existe quelques évidences en faveur d'une protection encore meilleure chez le primate. Selon RIOPELLE et al. (1975), les petits singes nés de mère mal nourrie ne manifestent aucune différence de poids à la naissance, et le degré de malnutrition de la mère est susceptible d'être très en-dessous de ce qui est nécessaire à la survie foetale chez les rongeurs. CHEEK et al. (1976) relèvent quant à eux, que l'analyse biochimique du cerveau de singes nés de mère gravement dénutrie ne montre aucune différence avec les témoins pour le contenu en DNA, RNA, protéines, cholesté-

rol, phospholipides, etc. Les auteurs concluent à une importante protection du foetus primate contre la restriction protéino-calorique de la mère. Ce processus de protection foetale a déjà été mentionné à plusieurs reprises dans notre travail, NAISMITH (1973).

En revanche, la carence modérée qui se poursuit après la naissance chez la progéniture de mère mal nourrie, a des conséquences beaucoup moins graves que la sous-nutrition aiguë sur le développement cortical. Les effets que nous avons démontrés sont même partiellement réversibles. Si nous extrapolons prudemment, cela nous autoriserait à envisager une maturation corticale normale ou proche de la normale chez des enfants carencés de manière chronique et modérée, à condition qu'un programme de réhabilitation nutritionnelle soit entrepris le plus tôt possible, au plus tard à la fin de la période critique (3-4 ans).

Il n'existe, à notre connaissance, aucun travail concernant le cortex cérébral humain de sujets sous-alimentés. Par contre, les quelques études entreprises sur le cerveau d'enfants décédés d'une grave carence nutritionnelle, ont révélé un contenu en protéines, DNA, RNA, très diminué, WINICK et ROSSO (1969), CANOSA (1974), de même que le contenu en lipides et composants myéliniques, FISHMAN et al. (1969), FOX et al (1972). La mort de ces enfants est cependant intervenue avant 2 ans, en pleine période vulnérable, et pour trois d'entre eux, WINICK et ROSSO (1969), le poids à la naissance était situé en-dessous de 2kg. On peut donc considérer qu'il s'agit là de cas extrêmes et nous savons que la plupart des enfants sous-alimentés le sont d'une manière beaucoup moins aiguë.

De très nombreuses études, portant sur le développement psychologique et intellectuel de cette catégorie d'enfants, ont été entreprises dans plusieurs pays. Les conclusions sont généralement assez pessimistes, mais c'est là qu'interviennent alors des considérations d'ordre non nutritionnel. En effet, tous les auteurs que nous avons lus, STEIN et al. (1972), CANOSA (1974), DELICARDIE et CRAVIOTO (1974), PATEL (1974), TIZARD

(1974), KLEIN et al. (1974), STOCH et SMYTHE (1976), BARNES (1976), etc. insistent sur le fait suivant: la provenance socio-économique des enfants souffrant de dénutrition est extrêmement basse et le manque de stimulations affectives, sociales et intellectuelles est considérable; il est quasiment impossible d'isoler dans ces conditions une influence uniquement nutritionnelle. LATHAM (1974) estime qu'on peut constater chez l'humain une corrélation entre déficience protéino-calorique et retard psycho-intellectuel, mais qu'il n'est en revanche pas rigoureux, étant donné l'importance des autres variables, d'assimiler corrélation et lien de cause à effet.

Ce que nous savons des effets de la sous-nutrition chez l'animal, nous permet toutefois de dire que vraisemblablement les facteurs nutritionnels et ceux de l'environnement agissent de manière synergique sur le développement cérébral et particulièrement cortical de l'enfant.

5. CONCLUSION.

Nous avons démontré dans ce travail un phénomène important : chez la souris, l'état nutritionnel durant la période vulnérable influence directement la maturation de l'écorce cérébrale. Bien plus, les conséquences de la sous-nutrition sont, à long terme, proportionnelles au degré de carence et dans une certaine mesure irréversibles.

Il nous est cependant difficile de conclure de manière définitive, et cela pour trois raisons.

La première touche aux aspects non encore investigués de cette recherche, aussi bien sur le plan de l'histologie quantitative que sur celui de l'ultrastructure corticale.

La deuxième a trait à la question des rapports nutrition-développement cortical-performances neuropsychologiques, et à la difficulté de passer d'un niveau de complexité à l'autre. Dans nos expériences, l'état structurel sous-tendant des fonctions importantes est atteint; il est dès lors vraisemblable que les performances neuropsychologiques de l'animal soient diminuées, mais des études comparatives structure-fonction chez les mêmes animaux seraient utiles pour mieux cerner le phénomène.

La troisième **raison** enfin, tient à la valeur limitée de nos modèles pour une situation humaine. Chez l'enfant, une nutrition adéquate au cours des premières années n'est certainement qu'un des facteurs contribuant au bon développement du cerveau et de l'écorce. Son influence pourrait néanmoins être un peu plus déterminante que celle de l'environnement.

Ainsi notre travail aura sans doute contribué à une meilleure compréhension des relations entre nutrition et développement cortical, mais il n'en demeure pas moins que le sujet reste ouvert.

B I B L I O G R A P H I E

ABERCROMBIE M., Estimation of nuclear population from microtome sections, Anat. Rec., 94 (1946) 239-247.

ADLARD B.P.F. and DOBBING J., Vulnerability of developing brain. III. Development of four enzymes in the brains of normal and undernourished rats, Brain Res., 28 (1971) 97-107.

ADLARD B.P.F. and DOBBING J., Vulnerability of developing brain. VIII. Regional acetylcholinesterase activity in the brains of adult rats undernourished in early life, Br. J. Nutr., 28 (1972) 139-143.

AGHAJANIAN G.K. and BLOOM F., The formation of synaptic junctions in developing rat brain; a quantitative electron microscopic study, Brain Res., 6 (1967) 716-727.

AHMAD G. and RAHMAN M.A., Effects of undernutrition and protein malnutrition on brain chemistry of rats, J. Nutr., 105 (1975) 1090-1103.

ALTMAN J., Autoradiographic and histological studies of postnatal neurogenesis. III. Dating the time of production and onset of differentiation of cerebellar microneurons in rats, J. Comp. Neurol., 136 (1969) 269-294.

ALTMAN J. and DAS G.D., Autoradiographic and histological studies of postnatal neurogenesis. I. A longitudinal investigation of the kinetics, migration and transformation of cells incorporating tritiated thymidine in neonate rats, with special reference to postnatal neurogenesis in some brain regions, J. Comp. Neurol., 126 (1966) 337-390.

ALTMAN J., DAS G.D. and SUDARSHAN K., The influence of nutrition on neural and behavioral development. I. Critical review of some data on the growth of the body and the brain following dietary deprivation during gestation and lactation, Dev. Psychobiol., 3/4 (1970) 281-301.

ANGEVINE J.B., Time of neuron origin in the hippocampal region. An autoradiographic study in the mouse, Exp. Neurol., 13/suppl. 2 (1965) 1-69.

ANGEVINE J.B. and SIDMAN R.L., Autoradiographic study of cell migration during histogenesis of cerebral cortex in the mouse, Nature, 25 (1961) 766-768.

ARBOGAST B.W. and ARSENIS C., The enzymatic ontogeny of neurons and glial cells isolated from postnatal rat cerebral gray matter, Neurobiology, 4 (1974) 21-37.

ARMSTRONG-JAMES M. and JOHNSON R., Quantitative studies of postnatal changes in synapses in rat superficial motor cerebral cortex. An electron microscopical study, Z. Zellforsch., 110 (1970) 559-568.

ÄSTROM K.-E., On the early development of the isocortex of fetal sheep, In: Progress in Brain Research, Developmental neurology, Bernhard and Schadé (eds.), Elsevier, Amsterdam, 26 (1967) 1-59.

BAIRD A., WIDDOWSON E.M. and COWLEY J.J., Effects of calories and protein deficiencies early in life on the subsequent learning ability of rats, Br. J. Nutr., 25 (1971) 391-403.

BARNES R.H., Dual role of environmental deprivation and malnutrition in retarding intellectual development, Am. J. Clin. Nutr., 29/8 (1976) 912-917.

BARNES R.H., ROBERTSON CUNNOLD S., ZIMMERMAN R.R., SIMMONS H., MAC LEOD R.B. and KROOK L., Influence of nutritional deprivations in early life on learning behavior of rats, as measured by performance in a water maze, J. Nutr., 89 (1966) 399-410.

BASS N.H., NETSKY M.G. and YOUNG E., Effect of neonatal malnutrition on developing cerebrum. I. Microchemical and histologic study of cellular differentiation in the rat, Arch. Neurol., 23 (1970) 289-302.

BEKOFF M. and FOX M.W., Postnatal neural ontogeny : environment-dependent and /or environment-expectant, Dev. Psychobiol., 5/4 (1972) 323-341.

BERRY M. and ROGERS A.W., The migration of neuroblasts in the developing cerebral cortex, J. Anat. (Lond.), 99 (1965) 691-709.

BISCONTE J.C. and MARTY R., Analyse chronoarchitectonique du cerveau de rat par autoradiographie. I. Histogenèse du télencéphale, J. Hirnforsch., 16/1 (1975) 55-74.

BLIZARD D.A. and RANDT C.T., Genotype interaction with undernutrition and external environment in early life, Nature, 251 (1974) 705-707.

BRIZZEE K.R., Quantitative histological studies on delayed effects of prenatal X irradiation in rat cerebral cortex, J. Neuropath. Exp. Neurol., 26 (1967) 584-600.

BRIZZEE K.R. and JACOBS L.A., Early postnatal changes in neuron packing density and volumetric relationship in the cerebral cortex of the white rat, Growth, 23 (1959) 337-347.

BRIZZEE K.R., VOGT J. and KHARETCHKO X., Postnatal changes in glia/neuron index with a comparison of methods of cell enumeration in the white rat, In : Progress in Brain Research, Growth and maturation of the brain, Purpura and Schadé (eds.), 4 (1964) 136-149.

BRIZZEE K.R., SHERWOOD N. and TIMIRAS P.S., A comparison of cell populations at various depth levels in cerebral cortex of young adult and aged Long Evans rats, J. Gerontol., 23 (1968) 289-297.

BRÜCKNER G., MARES V. and BIESOLD D., Neurogenesis in the visual system of the rat. An autoradiographic investigation, J. Comp. Neurol., 166 (1976) 245-256.

CAJAL R.S., Histologie du système nerveux de l'homme et des vertébrés, vol. I-II, Paris Maloine (1911).

CALDWELL D.F. and CHURCHILL J.A., Learning ability in the progeny of rats administered a protein-deficient diet during the second half of gestation, Neurology, 17 (1967) 95-99.

CALEY D.W. and MAXWELL D.S., An electron microscopic study of the neuroglia during postnatal development of the rat cerebrum, J. Comp. Neurol., 133 (1968 a) 45-69.

CALEY D.W. and MAXWELL D.S., An electron microscopic study of neurons during postnatal development of the rat cerebral cortex, J. Comp. Neurol., 133 (1968 b) 17-43.

CALEY D.W. and MAXWELL D.S., Development of blood vessels and extracellular spaces during postnatal maturation of rat cerebral cortex, J. Comp. Neurol., 138 (1970) 31-48.

CALLISON D.C. and SPENCER J.W., Effect of chronic undernutrition and /or visual deprivation upon the visual evoked (response) potential from the developing rat brain, Dev. Psychobiol., 1/3 (1968) 196-204.

CAMMERMEYER J., Differences in shape and size of neuroglial nuclei in the spinal cord due to individual, regional and technical variations, Acta Anat., 40 (1960) 149-177.

CAMPAGNONI A.T. and CAMPAGNONI C.W., A regional study of developing rat brain : the accumulation and distribution of proteolipid proteins, Journal of Neurobiology, 7/4 (1976) 313-324.

CANOSA C.A., Early nutrition and mental performance, In : Modern Problems in Paediatrics, pre- and postnatal development of the human brain, Karger (ed.), Basel, 13 (1974) 256-268.

CASTELLANO C. and OLIVERIO A., Early malnutrition and postnatal changes in brain and behavior in the mouse, Brain Res., 101 (1976) 317-325.

CAVINESS V.S. Jr., Architectonic Map of neocortex of the normal mouse, J. Comp. Neurol., 164 (1975) 247-264.

CHASE H.P., LINDSLAY W.F.B. Jr. and O'BRIEN D., Undernutrition and cerebellar development, Nature, 221 (1969) 554-555.

CHEEK D.B., HOLT A.B., LONDON W.T., ELLENBERG J.H. and SEVER J.L., Nutritional studies in the pregnant rhesus monkey- the effect of protein-calorie or protein deprivation on growth of the fetal brain, Am. J. Clin. Nutr., 29 (1976) 1149-1157.

CHOW B.F. Maternal nutrition and behavior performances of the offspring. A defect of brain or pituitary, In : Modern Problems in Paediatrics, pre- and postnatal development of the human brain, Karger (ed.), Basel, 13 (1974) 244-255.

CLARK G.M. and ZAMENHOF S., Correlations between cerebral and cortical parameters in the developing and mature rat brain, Int. J. Neurosci., 5 (1973) 223-229.

CLARK G.M., ZAMENHOF S., VAN MARTHENS E., GRAVEL L. and KRUGER L., The effect of prenatal malnutrition on dimensions of cerebral cortex, Brain Res., 54 (1973) 397-402.

CLARKE P.G.H., ROGERS L.A. and COWAN W.M., The time of origin and the pattern of survival of neurons in the isthmo-optic nucleus of the chick, J. Comp. Neurol., 167 (1976) 125-142.

COLONNIER M., The tangential organization of the visual cortex, J. Anat. (Lond.), 98 (1964) 327-344.

CONEL J.L., The postnatal development of the human cerebral cortex, Harvard University Press, Cambridge, Mass., (1939-67).

CORDERO M.E., DIAZ G. and ARAYA J., Neocortex development during severe malnutrition in the rat, Am. J. Clin. Nutr., 29 (1976) 358-365.

COWAN W.M., Neuronal death as a regulative mechanism in the control of cell number in the nervous system. In : Development and Aging in the Nervous System, Rockstein (ed.), Academic Press, New York, (1973) 19-41.

COWAN W.M. and WENGER E., The development of the nucleus of origin of centrifugal fibers to the retina in the chick, J. Comp. Neurol., 133 (1968) 207-240.

CRAGG B.G., The density of synapses and neurons in the motor and visual areas of the cerebral cortex. J. Anat. (Lond.), 101/4 (1967) 639-654.

CRAGG B.G., The development of cortical synapses during starvation in the rat, Brain, 95 (1972) 143-150.

CRAGG B.G., The development of synapses in the visual system of the cat, J. Comp. Neurol., 160 (1975a)147-166.

CRAGG B.G., The development of synapses in kitten visual cortex during visual deprivation, Exp. Neurol., 46 (1975b)445-451.

CRAIGIE E.H., Postnatal changes in vascularity in the cerebral cortex of the male albino rat, J. Comp. Neurol., 39 (1925) 301-324.

CRAVIOTO H.M., RANDT C.T., DERBY B.M. and DIAZ A., A quantitative ultrastructural study of synapses in the brains of mice following early life undernutrition, Brain Res., 118 (1976) 304-306.

CRNIC L.S., Effects of infantile undernutrition on adult learning in rats : methodological and design problems, Psychol. Bull., 83/4 (1976) 715-728.

CULLEY W.J. and LINEBERGER R.O., Effects of undernutrition on the size and composition of rat brain, J. Nutr., 96 (1968) 375-381.

CZAJKA-NARINS D.M., MILLER S.A. and BROWNING A.M., Studies of the protein requirement of the neonatal rat, J. Nutr., 103 (1973) 1608-1615.

DALTON M.M., HOMMES O.R. and LEBLOND C.P., Correlation of glial proliferation with age in the mouse brain, J. Comp. Neurol., 134 (1968) 397-400.

DAVISON A.N., CUZNER M.L., BANIK N.L. and OXBERRY J., Myelinogenesis in the rat brain, Nature, 212 (1966) 1373-1374.

DAVISON A.N. and DOBBING J., The developing brain, In : Applied Neurochemistry, Davison and Dobbing (eds.), Oxford Blackwell, (1968) 253-286.

DAWKINS R., Selective neurone death as a possible memory mechanism, Nature, 229 (1971) 118-119.

DELICARDIE E.R. and CRAVIOTO J., Behavioral responsiveness of survivors of clinically severe malnutrition to cognitive demands. In : Symposia of the Swedish Nutrition Foundation. XII. Early malnutrition and mental development, Almqvist and Wiksell (eds.), Stockholm, (1974) 134-153.

DERER P., Histogenèse du néocortex du rat albinos durant la période foetale et néonatale, J. Hirnforsch., 15/1 (1974) 49-74.

DEZA L. and EIDELBERG L., Development of cortical electrical activity in the rat, Exp. Neurol., 17 (1967) 425-438.

DIAMOND M.C., KRECH D. and ROSENZWEIG M.R., The effects of an enriched environment on the histology of the rat cerebral cortex, J. Comp. Neurol., 123 (1964) 111-120.

DIAMOND M.C., JOHNSON R.E. and INGHAM C.A., Morphological changes in the young adult and aging rat cerebral cortex, hippocampus and diencephalon, Behav. Biol., 14 (1975) 163-174.

DICKERSON J.W.T. and PAO S.-K., Effect of pre- and postnatal maternal deficiency on free amino acids and amines of rat brain, Biol. Neonate, 25 (1975) 114-124.

DOBBING J., The influence of early nutrition on the development and myelination of the brain, Proc. R. Soc. Lond. B, 159 (1964) 503-509.

DOBBING J., Vulnerable periods in deloping brain, In : Applied Neurochemistry, Davison and Dobbing (eds.), Oxford Blackwell, (1968) 287-316.

DOBBING J., Undernutrition and the developing brain. The relevance of animal models to the human problem, Am. J. Dis. Child., 120 (1970) 411-415.

DOBBING J., The later growth of the brain and its vulnerability, Pediatrics, 53 (1974) 2-6.

DOBBING J., HOPEWELL J.W. and LYNCH A., Vulnerability of developing brain. VII. Permanent deficit of neurons in cerebral and cerebellar cortex following early mild undernutrition, Exp. Neurol., 32 (1971) 439-447.

DOBBING J. and SANDS J., Vulnerability of developing brain. IX. The effect of nutritional growth retardation on the timing of the brain growth-spurt, Biol. Neonate, 19 (1971) 363-378.

DODGE P.R., PRENSKY A.L. and FEIGIN R.D., In : Nutrition and the Developing Nervous System, The C.V. Mosby Company (ed.), Saint Louis (1975) XI.

DONALDSON H.H., The effect of underfeeding on the percentage of water, on the ether-alcohol extract, and on medullation in the central nervous system of the albino rat, J. Comp. Neurol., 21/2 (1911).

DYSON S.E. and JONES D.G., Some effects of undernutrition on synaptic development - A quantitative ultrastructural study, Brain Res., 114 (1976) 365-378.

EAYRS J.T. and HORN G., The development of cerebral cortex in hypothyroid and starved rats. Anat. Rec., 121 (1955) 53-61.

EAYRS J.T. and GOODHEAD B., Postnatal development of the cerebral cortex in the rat, J. Anat. (Lond.), 93 (1959) 385-402.

ECKHERT C.D., BARNES R.H. and LEVITSKY D.A., Regional changes in rat brain choline acetyltransferase and acetylcholinesterase activity resulting from undernutrition imposed during different periods of development, J. Neurochem., 27 (1976) 277-283.

ECONOMO C.V., and KOSKINAS G.N., Die Cytoarchitektonik der Hirnrinde der erwachsenen Menschen, Springer (ed.), Wien und Berlin (1925).

ESCOBAR A., Cytoarchitectonic derangement in the cerebral cortex of the undernourished rat, In : Symposia of the Swedish Nutrition Foundation. XII. Early malnutrition and mental development, Almqvist and Wiksell (eds.), Stockholm, (1974) 55-59.

FELDMAN M.L. and DOWD C., Aging in rat visual cortex : light microscopic observations on layer V pyramidal apical dendrites, Anat. Rec., 178 (1974) 355.

FERNANDEZ V. and BRAVO H., Autoradiographic study of development of the cerebral cortex in the rabbit, Brain Behav. Evol., 9 (1974) 317-332.

FERNSTROM J.D. and LYTLE L.D., Corn malnutrition, brain serotonin and behavior, Nutr. Rev., 34 (1976) 257-262.

FISH I. and WINICK M., Effect of malnutrition on regional growth of the developing rat brain, Exp. Neurol., 25 (1969) 534-540.

FISHMAN M.A., PRENSKY A.L. and DODGE P.R., Low content of cerebral lipids in infants suffering from malnutrition, Nature, 221 (1969) 552-553.

FISHMAN M.A., MADYASTHA P. and PRENSKY A.L., The effect of undernutrition on the development of myelin in the rat central nervous system, Lipids, 6 (1971) 458-465.

FOLCH-PI J., Composition of the brain in relation to maturation, In : Biochemistry of the Developing Nervous System, Waelsch (ed.), Academic Press, New York, (1955), 121-136.

FORBES W.B., RESNICK O., STERN W.C., BRONZINO J.D. and MORGANE P.J., The effect of chronic protein malnutrition on transcallosal evoked responses in the rat, Dev. Psychobiol., 8/6 (1975) 503-509.

FOX M.W., Reflex ontogeny and behavioral development of the mouse, Animal Behaviour (Lond.), 13/1 (1965) 234-241.

FOX J.H., FISHMAN M.A., DODGE P.R. and PRENSKY A.L., The effect of malnutrition on human central nervous system myelin, Neurology, 22 (1972) 1213-1216.

FRANKOVA S., Relationship between nutrition during lactation and maternal behavior of rats, Activ. Nerv. Super. (Praha), 13 (1971) 1-9.

FRANKOVA S., Interaction between early malnutrition and stimulation in animals, In : Symposia of the Swedish Nutrition Foundation. XII. Early malnutrition and mental development, Almqvist and Wiksell (eds.), Stockholm, (1974) 202-209.

FROTSCHER M., Die postnatale Entwicklung corticaler Neurone und ihre Beeinflussung durch ein Trauma bei Rattus norvegicus. J. Hirnforsch., 16/3 (1975) 203-221.

FUGITA S., The matrix cell and cytogenesis in the developing central nervous system, J. Comp. Neurol., 120 (1963) 37-42.

GALAMBOS R., The glia-neuronal interaction : some observations, J. Psychiat. Res., 8 (1971) 219-224.

GALLER J.R. and TURKEWITZ G., Variability of the effects of rearing in a large litter on the development of the rat, Dev. Psychobiol., 8/4 (1975) 325-331.

GAMBETTI P., AUTILIO-GAMBETTI L., GONATAS N.K., SHAFER B. and STIEBER A., Synapses and malnutrition. Morphological and biochemical study of synaptosomal fractions from rat cerebral cortex, Brain Res., 47 (1972) 477-484.

GAMBETTI P., AUTILIO-GAMBETTI L., RIZZUTO N., SHAFER B. and PFAFF L., Synapses and malnutrition : Quantitative ultrastructural study of rat cerebral cortex, Exp. Neurol., 43 (1974) 464-473.

GAREY L.J., A light and electron microscopic study of the visual cortex of the cat and monkey, Proc. R. Soc. Lond. B, 179 (1971) 21-40.

GAREY L.J. and PETTIGREW J.D., Ultrastructural changes in kitten visual cortex after environmental modification, Brain Res., 66 (1974) 165-172.

GLOBUS A. and SCHEIBEL A.B., Loss of dendritic spines as an index of presynaptic patterns, Nature, 212 (1966) 463-465.

GLOBUS A. and SCHEIBEL A.B., Pattern and field in cortical structure : the rabbit, J. Comp. Neurol., 131 (1967 a) 155-172.

GLOBUS A. and SCHEIBEL A.B., The effect of visual deprivation on cortical neurons : A Golgi study, Exp. Neurol., 19 (1967 b) 331-345.

GLOBUS A., ROSENZWEIG M.R., BENNETT E.L. and DIAMOND M.C., Effects of differential experience on dendritic spine counts in rat cerebral cortex, J. Comp. Physiol. Psychol., 82/2 (1973) 175-181.

GLÜCKSMANN A., Cell death in normal vertebrate ontogeny, Biol. Rev., 25-26 (1951) 59-86.

GOLGI C., Sulla struttura della sostanza grigia del cervello, Gazz. Med. Ital. Lombarda, 33 (1873) 244-246.

GRAMSBERGEN A., EEG Development in normal and undernourished rats, Brain Res., 105 (1976) 287-308.

GRAY E.G., Electron microscopy of synaptic contacts on dendritic spines of the cerebral cortex, Nature, 183 (1959) 1592-93.

GREENOUGH W.T., VOLKMAR F.R., and JURASKA J.M., Effects of rearing complexity on dendritic branching in frontolateral and temporal cortex of the rat, Exp. Neurol., 41 (1973) 371-378.

HADDARA M., A quantitative study of the postnatal changes in the packing density of the neurons in the visual cortex of the mouse, J. Anat. (Lond.), 90 (1956) 494-501.

HAMBURGER V., Cell death in the development of the lateral motor column of the chick embryo, J. Comp. Neurol., 160 (1975) 535-546.

HAMBURGER V. and LEVI-MONTALCINI R., Proliferation differentiation and degeneration in the spinal ganglia of the chick embryo under normal and experimental conditions, J. Exp. Zool., 111 (1949) 457-501.

HAMLYN L.H., An electron microscopic study of pyramidal neurons in the Ammon's horn of the rabbit, Nature, 190 (1961) 645-646.

HAMMARBERG C., Studien über Klinik und Pathologie der Idiotie, Akademische Buchdruckerei, Upsala (1895).

HANSON H.M. and SIMONSON M., Effects of fetal undernourishment on experimental anxiety, Nutrition Reports International, 4/5 (1971) 307-314.

HARA H., Effects of maternal hypoxia on incorporation of 3H-thymidine into DNA of neural tube matrix cells in the mouse embryo (an autoradiographic study), Beitr. Pathol., 154 (1975) 293-307.

HATAI S., The effect of partial starvation on the brain of the white rat, Am. J. Physiol., 12/1 (1904).

HATAI S., Preliminary note on the size and condition of the central nervous system in albino rats experimentally stunted, J. Comp. Neurol., 18/2 (1908).

HAUG H., Remarks on the determination and significance of the grey cell coefficient, J. Comp. Neurol., 104 (1956) 473-492.

HAUG H., Stereological methods in the analysis of neuronal parameters in the central nervous system, Journal Microsc., Oxford, 95/1 (1972) 165-180.

HERMANN H.W., The relationship of neonatal nutrition to brain growth, Minn. Med., 52 (1969) 867-870.

HICKS S.P. and d'AMATO C.J., Cell migrations to the isocortex in the rat, Anat. Rec., 160 (1968) 619-634.

HIMWICH W.A., Biochemical and neurophysiological development of the brain in the neonatal period, Int. Rev. Neurobiol., 4 (1962) 117-158.

HIS W., Die Entwicklung des menschlichen Gehirns während der ersten Monate, Hirzel (ed.), Leipzig (1904).

HOMMES O.R. and LEBLOND C.P., Mitotic division of neuroglia in the normal adult rat, J. Comp. Neurol., 129 (1967) 269-278.

HOWARD E. and GRANOFF D.M., Effect of neonatal food restriction in mice on brain growth, DNA and cholesterol, and on adult delayed response learning, J. Nutr., 95 (1968) 111-121.

HSUEH A.M., AGUSTIN C. and CHOW B.F., Growth of young rats after differential manipulation of maternal diet, J. Nutr., 91 (1967) 195-200.

HYDEN H. and LANGE P.W., Brain proteins in undernourished rats during learning, Neurobiology, 5 (1975) 84-100.

JACOBSON M., In : Developmental Neurobiology, Holt, Rinehart and Winston (eds.) (1970) 196-199.

JOHNSON J.E. and YOESLE R.A., The effects of malnutrition on the developing brain stem of the rat : a preliminary experiment using the lateral vestibular nucleus, Brain Res., 89 (1975) 170-174.

JONES D.G. and DYSON S.E., Synaptic junctions in undernourished rat brain - An ultrastructural investigation, Exp. Neurol., 51/3 (1976) 529-535.

KÄLLEN B., Cell degeneration during normal ontogenesis of the rabbit brain, J. Anat. (Lond.), 89 (1955) 153-160.

KEMPER T.L., CAVINESS W.F. and YAKOVLEV P.I., The neuronographic and metric study of the dendritic arbours of neurons in the motor cortex of Macaca Mulatta at birth and at 24 months of age, Brain, 96 (1973) 765-782.

KILLACKEY H.P., BELFORD G., RYUGO R. and RYUGO D.K., Anomalous organization of thalamocortical projections consequent to vibrissae removal in the newborn rat and mouse, Brain Res., 104 (1976) 309-315.

KLEIN R.E., YARBOUGH C., LASKY R.E. and HABICHT J.P., Correlations of mild to moderate protein-calorie malnutrition among rural guatemalan infants and preschool children. In : Symposia of the Swedish Nutrition Foundation. XII. Early malnutrition and mental development, Almqvist and Wiksell (eds.), Stockholm, (1974) 168-181.

KOBAYASHI T., INMAN O.R., BUNO W. and HIMWICH H.E., A multidisciplinary study of changes in mouse brain with age, Recent Advances Biol. Psychiatr. 5 (1963) 293-308.

KÖNIGSMARK B.W., Methods for the counting of neurons, In : Contemporary Research Methods in Neuroanatomy, Nauta and Ebesson (eds.), Springer-Verlag, (1970) 315-340.

KORR H., SCHULTZE B. and MAURER W., Autoradiographic investigation of glial proliferation in the brain of adult mice. I. The DNA synthesis phase of neuroglia and endothelial cells, J. Comp. Neurol., 150 (1973) 169-176.

KORR H., SCHULTZE B. and MAURER W., Autoradiographic investigation of glial proliferation in the brain of adult mice. II. Cycle time and mode of proliferation of neuroglia and endothelial cells, J. Comp. Neurol., 160 (1975) 477-490.

KRAUS-RUPPERT R., LAISSUE J., BURKI H. and ODARTCHENKO N., Proliferation and turnover of glial cells in the forebrain of young adult mice as studied by repeated injections of 3H-thymidine over a prolonged period of time, J. Comp. Neurol., 148 (1973) 211-216.

KRIEG J.S., Connections of the cerebral cortex. I. The albino rat. A. Topography of the cortical areas, J. Comp. Neurol., 84 (1946) 221-276. B. Structures of the cortical areas, J. Comp. Neurol., 84 (1946) 277-322.

KRIGMAN M.R. and HOGAN E.L., Undernutrition in the developing rat : effect upon myelination, Brain Res., 107 (1976) 239-255.

KRISTT D.A. and MOLLIVER M.E., Synapses in newborn rat cerebral cortex : a quantitative ultrastructural study, Brain Res., 108 (1976) 180-186.

KUNZ G., HOLZ L., ENGLISCH H.-J. und WENZEL J., Untersuchungen zur Spinedichte und Spineverteilung an apikalen und basalen Dendriten von lamina-V-pyramiden-Zellen des sensorischen Cortex der Ratte, J. Hirnforsch., 15 5/6 (1974) 389-399.

LANGMAN J. and WELCH G.W., Effect of vitamin A on development of the central nervous system, J. Comp. Neurol., 128 (1966) 1-16.

LATHAM M.C., Protein-calorie malnutrition in children and its relation to psychological development and behavior, Physiol. Rev., 54/3 (1974) 541-565.

LEATHWOOD P.D. and MAURON J., Effects of early undernutrition on avoidance learning in mice, Proc. Nutr. Soc., 33 (1974) 20-21A.

LEATHWOOD P.D., BUSH M.S. and MAURON J., The effects of chlordiazepoxide on avoidance performance of mice subjected to undernutrition or handling stress in early life, Psychopharmacologia (Berl.), 41 (1975) 105-109.

LEE C.-J., Biosynthesis and characteristics of brain protein and ribonucleic acid in mice subjected to neonatal infection or undernutrition, J. Biol. Chem., 245 (1970) 1998-2004.

LEVINE S. and OTIS L.S., The effects of handling before and after weaning on the resistance of albino rats to later deprivation, Can. J. Psychol., 12 (1958) 103-108.

LEVITSKY D.A. and BARNES R.H., Nutritional and environmental interactions in the behavioral development of the rat : long-term effects, Science, 176 (1971) 68-71.

LEWIS P.D., Cell death in the germinal layers of the postnatal rat brain, Neuropathology and Applied Neurobiology, 1 (1975) 21-29.

LEWIS P.D., BALAZS R., PATEL A.J. and JOHNSON A.L., The effect of undernutrition in early life on cells generation in the rat brain, Brain Res., 83 (1975) 235-247.

LING E.A. and LEBLOND C.P., Investigation of glial cells in semithin sections. II. Variation with age in the number of the various glial cell types in rat cortex and corpus callosum, J. Comp. Neurol., 149 (1973) 73-82.

LUND J.S., Organization of neurons in the visual cortex, area 17, of the monkey (Macaca Mulatta), J. Comp. Neurol., 147 (1973) 455-496.

LYNCH A., Postnatal undernutrition : An alternative method, Dev. Psychobiol., 9/1 (1976) 39-48.

MAC CANCE R.A. and WIDDOWSON E.M., Protein deficiencies and calorie deficiencies, Lancet, 2 (1966 a) 158.

MAC CANCE R.A. and WIDDOWSON E.M., In : Mammalian Protein Metabolism, Munro (ed.), Academic Press, New York, 2 (1966 b) 226.

MALKASIAN D.R. and DIAMOND M.C., The effects of environmental manipulation on the morphology of the neonate rat brain, Intern. J. Neurosci., 2 (1971) 161-170.

MARES V.L. and LODIN Z., An autoradiographic study of DNA synthesis in adolescent and adult mouse forebrain, Brain Res., 76 (1974) 557-561.

MARIN-PADILLA M., Number and distribution of the apical dendrite spines of the layer V pyramidal cells in man, J. Comp. Neurol., 131 (1967) 475-490.

MARIN-PADILLA M., Prenatal and early postnatal ontogenesis of the human motor cortex : a Golgi study. I. The sequential development of cortical layers, Brain Res., 23 (1970) 167-183. II. The basket pyramidal system, Brain Res., 23 (1970) 185-191.

MARIN-PADILLA M. and STIBITZ G.R., Distribution of the apical dendritic spines of the layer V pyramidal cells of the hamster neocortex, Brain Res., 11 (1968) 580-92.

MASSARO T.F., LEVITSKY D.A. and BARNES R.H., Protein malnutrition in the rat : its effects on maternal behavior and pup development, Dev. psychobiol., 7/6 (1974) 551-561.

MAURON J., Le Problème de la malnutrition, Fascicule édité par Nestlé, Vevey, Suisse (1975).

MELLER K., BREIPOHL W. and GLEES P., Early cytological differentiation in the cerebral hemisphere of mice. An electron microscopical study, Z. Zellforsch., 72 (1966) 525-533.

MELLER K., BREIPOHL W. and GLEES P., Synaptic organization of the molecular and the outer granular layer in the motor cortex in the white mouse during postnatal development. A Golgi and electron microscopical study, Z. Zellforsch., 92 (1968) 217-231.

MESSER M., THOMAN E.B., GALOFRE TERRASA A. and DALLMAN P.R., Artificial feeding of infant rats by continuous gastric infusion, J. Nutr., 98 (1969) 404-410.

MESSIER B., LEBLOND C.P. and SMART I., Presence of DNA synthesis and mitosis in the brain of young adult mice, Exp. Cell. Res., 14 (1957) 224-226.

MILLER S.A., In : Mammalian protein metabolism, Munro (ed.), Academic Press, New York, 3 (1969) 190-191.

MILLER S.A., Nutrition in the neonatal development of protein metabolism, Fed. Proc., 29/4 (1970) 1497-1502.

MILLER S.A. and DYMSZA H.A., Artificial feeding of neonatal rats, Science, 141 (1963) 517-518.

MLONYENI M., The late stages of development of the primary cochlear nuclei in mice, Brain Res., 4 (1967) 334-344.

MØLLGARD K., DIAMOND M.C., BENETT E.L., ROSENZWEIG M.R. and LINDNER B., Quantitative synaptic changes with differential experience in rat brain, Intern. J. Neurosci., 2 (1971) 113-128.

MOLLIVER M.E. and VAN DER LOOS H., The ontogeny of cortical circuitry : the spatial distribution of synapses in somesthetic cortex of newborn dog, Ergeb. Anat. Entwicklungsgesch., 42 (1970) 5-53.

MOREST D.K., A study of neurogenesis in the forebrain of opossum pouch young, Z. Anat. Entwickl.- Gesch., 130 (1970) 265-305.

MORI S. and LEBLOND C.P., Electron microscopic features and proliferation of astrocytes in the corpus callosum of the rat, J. Comp. Neurol., 137 (1969) 197-226.

MORRISON A.B. and NARAYANA RAO M., Some relationships between proteins and calories, World Rev. Nutr. Diet., 7 (1967) 204-224.

MOUREK J., HIMWICH W.A., MYSLIVICEK J. and CALLISON A.D., The role of nutrition in the development of evoked cortical responses in rat, Brain Res., 6 (1967) 241-251.

MOUREK J., AGRAWAL H.S., DAVIS J.M. and HIMWICH W.A., The effects of short term starvation on amino acid content in rat brain during ontogeny, Brain Res., 19 (1970) 229-237.

NAGY Z.M., Ontogeny of memory in the neonatal mouse, J. Comp. Physiol. Psychol., 81/3 (1972) 380-393.

NAGY Z.M., MISANIN J.R. and OLSEN P.L., Development of 24 hours retention of escape learning in neonatal CH_3 mice, Dev. Psychobiol., 5/3 (1972) 259-268.

NAGY Z.M. and SANDMANN M., Development of learning and memory of T-maze training in neonatal mice, J. Comp. Physiol. Psychol., 83/1 (1973) 19-26.

NAGY Z.M. and MURPHY J.M., Learning and retention of a discriminated escape response in infant mice, Dev. Psychobiol., 7/2 (1974) 185-192.

NAISMITH D.J., Adaptations in the metabolism of protein during pregnancy and their nutritional implications, Nutrition Reports International, 7/5 (1973) 383-390.

OLIVERIO A., Genetic and biochemical analysis of behavior in mice, Prog. Neurobiol., 3/3 (1974) 191-215.

OLIVERIO A., CASTELLANO C. and RENZI P., Genotype or prenatal drug experience affect brain maturation in the mouse, Brain Res., 90 (1975) 357-360.

PARNAVELAS J.G. and GLOBUS A., The effect of continuous illumination on the development of cortical neurons in the rat : A Golgi study, Exp. Neurol., 51 (1976) 637-647.

PASTERNAK J.F. and WOOLSEY T.A., The number, size and spatial distribution of neurons in lamina IV of the mouse SMI neocortex, J. Comp. Neurol., 160 (1975) 291-306.

PATEL A.J., BALAZS R. and JOHNSON A.L., Effect of undernutrition on cell formation in the rat brain. J. Neurochem., 20 (1973) 1151-1165.

PATEL B.D., Influence of malnutrition and environmental deprivation on the development of the child. Observation on a tribal population in Dang (Western India), In : Symposia of the Swedish Nutrition Foundation. XII. Early malnutrition and mental development, Almqvist and Wiksell (eds.), Stockholm, (1974) 155-167.

PENN N.W., Modification of brain deoxyribonucleic acid base content with maturation in normal and malnourished rats, Biochem. J., 155 (1976) 709-712.

PETERS A. and FELDMANN M., The cortical plate and molecular layer of the late rat fetus, Z. Anat. Entwickl.-Gesch., 141 (1973) 3-37.

PLATT B.S. and STEWART R.J.C., Effects of protein-calorie deficiency on dogs. 2. Morphological changes in the nervous system, Dev. Med. Child Neurol., 11 (1969) 174-192.

PRESTIGE M.C., Axon and cell numbers in the developing nervous system, Br. med. Bull., 30/2 (1974) 107-111.

PRIVAT A. and LEBLOND C.P., The subependymal layer and neighbouring region in the brain of the young rat, J. Comp. Neurol., 146 (1972) 277-302.

PTACEK J.M. and FAGAN-DUBIN L., Developmental changes in neuron size and density in the visual cortex and superior colliculus of the postnatal golden hamster, J. Comp. Neurol., 158 (1974) 237-242.

PURPURA D.P., SHOFER R.J., HOUSEPIAN E.M. and NOBACK C.R., Comparative ontogenesis of structure-function relations in cerebral and cerebellar cortex, In : Progress in Brain Research, growth and maturation of the brain, Purpura and Schadé (eds.), Elsevier, Amsterdam, 4 (1964) 187-221.

RABINOWICZ T., L'écorce cérébrale du prématuré du 8ème mois. IV International Congress of Neuropathology, Sept. 1961, München. Proceedings (Stuttgart), vol. III (1962) 3-5.

RABINOWICZ T., The cerebral cortex of the premature infant of the 8th month, In : Progress in Brain Research, growth and maturation of the brain, Purpura and Schadé (eds.), Elsevier, Amsterdam, 4 (1964) 39-92.

RAJALAKSHMI R., ALI S.Z. and RAMAKRISHNAN C.V., Effect of inanition during the neonatal period on discrimination learning and brain biochemistry in the albino rat, J. Neurochem., 14 (1967) 29-34.

RAJALAKSHMI R., KULKARNI A.B. and RAMAKRISHNAN C.V., Effects of preweaning and postweaning undernutrition on acetylchloline levels in rat brain, J. Neurochem., 23 (1974) 119-121.

RAKIC P., Mode of cell migration to the superficial layers of fetal monkey neocortex, J. Comp. Neurol., 145 (1972) 61-84.

RAKIC P., Neurons in rhesus monkex visual cortex : systematic relation between time of origin and eventual disposition, Science, 183 (1974) 425-427.

RAMANAMURTHY P.S.V., Maternal and early postnatal malnutrition and transmitter amines in rat brain, J. Neurochem., 28 (1977) 253-254.

RAMON-MOLINER E., The histology of the postcruciate gyrus in the cat. II. A statistical analysis of the dendritic distribution, J. Comp. Neurol., 117 (1961) 63-76.

RANDT C.T. and DERBY B.M., Behavioral and brain correlations in early life nutritional deprivation, Arch. Neurol., 28 (1973) 167-172.

RANDT C.T., BLIZARD D.A. and FRIEDMAN E., Early life undernutrition and agression in two mouse strains, Dev. Psychobiol., 8/3 (1975) 275-279.

RICE F.L., Somato-sensory cortex of the mouse : time of origin and postnatal migration of neurons in the barrel field. A quantitative autoradiographic study, Anat. Rec., 178 (1974) 447.

RIDER A.A. and SIMONSON M., Effect on rat offspring of maternal diet deficient in calories but not in proteins, Nutrition Reports International, 7/5 (1973) 361-370.

RIOPELLE A.J., HILL C.W. and LI S.C., Protein deprivation in primates. V. Fetal mortality and neonatal status of infant monkeys born of deprived mothers, Am. J. Clin. Nutr., 28 (1975) 989-993.

ROMANES C.J., Motor localisation and the effects of nerve injury on the ventral horn cells of the spinal cord, J. Anat. (Lond.), 80 (1946) 117-131.

ROSE G.H., The development of visually evoked electrocortical responses in the rat, Dev. Psychobiol., 1/1 (1968) 35-40.

ROSE M., Cytoarchitektonischer Atlas der Grosshirnrinde der Maus, J. Psychol. Neurol. (Lpz.), 40 (1929/30) 1-51.

ROSENZWEIG M.R., BENETT E.L., DIAMOND M.C., WU S.Y., SLAGLE R.W. and SAFFRAN E., Influences of environmental complexity and visual stimulation on development of occipital cortex in rat, Brain Res., 14 (1969) 427-445.

RYUGO D.K., RYUGO R. and KILLACKEY H.P., Changes in pyramidal cell density consequent to vibrissae removal in the newborn rat, Brain Res., 96 (1975 a) 82-87.

RYUGO R., RYUGO D.K. and KILLACKEY H.P., Differential effects of enucleation on two populations of layer V pyramidal cells, Brain Res., 88 (1975 b) 554-559.

SALAS M. and CINTRA I., Nutritional influences upon somatosensory evoked responses during development in the rat, Physiol. Behav., 10 (1973) 1019-1022.

SALAS M., DIAZ S. and NIETO A., Effects of neonatal food deprivation on cortical spines and dendritic development of the rat, Brain Res., 73 (1974) 139-144.

SAUER E.C., Mitosis in the neural tube, J. Comp. Neurol., 62 (1935) 377-406.

SCHADE J.P., VAN BACKER H. and COLON E., Quantitative analysis of neuronal parameters in the maturing cerebral cortex, In : Progress in Brain Research, Growth and maturation of the brain, Schadé and Purpura (eds.), Elsevier, Amsterdam, 4 (1964) 150-175.

SCHAPER A., The earliest differentiation in the central nervous system of vertebrates, Science, 5 (1897) 430-431.

SCHEIBEL M.E., LINDSAY A., TOMIYASU U. and SCHEIBEL A.B., Progressive dendritic changes in aging human cortex, Exp. Neurol., 47 (1975) 392-403.

SCHLESSINGER A.R., COWAN W.M. and GOTTLIEB P.I., An autoradiographic study of the time of origin and the pattern of granule cell migration in the dentate gyrus of the rat, J. Comp. Neurol., 159 (1974) 149-176.

SHAPIRO S. and VUKOVICH K.R., Early experience effects upon cortical dendrites : a proposed model for development, Science, 167 (1970) 292-294.

SHIMADA M. and LANGMAN J., Cell proliferation, migration and differentiation in the cerebral cortex of the golden hamster, J. Comp. Neurol., 139 (1970) 227-244.

SHIVERS R.R. and ROOFE P.G., Cerebral cell population under hypoxia, Anat. Rec., 154 (1966) 841-846.

SHOEMAKER W.J. and WURTMAN R.J., Effect of perinatal undernutrition on the metabolism of catecholamines in the rat brain, J. Nutr., 103 (1973) 1537-1547.

SHOLL A.D., Dendritic organization in the neurons of the visual and motor cortices of the cat, J. Anat. (Lond.), 87 (1953) 387-406.

SHRADER R.E. and ZEMAN F.J., Effects of maternal protein deprivation on morphological and enzymatic development of neonatal rat tissue, J. Nutr., 99 (1969) 401-421.

SIASSI F. and SIASSI B., Differential effects of protein-calorie restriction and subsequent repletion on neuronal and non-neuronal components of cerebral cortex in newborn rats, J. Nutr., 103 (1973) 1625-1633.

SIMPSON L.L., A study of interaction between amphetamine and food deprivation, Psychopharmacologia (Berl.), 38 (1974) 279-286.

SLOB A.K., SNOW C. and de NATRIS-MATHOT E., Absence of behavioral deficits following neonatal undernutrition in the rat, Dev. Psychobiol., 6/3 (1973) 177-186.

SMART I. and LEBLOND C.P., Evidence for division and transformation of neuroglia cells in the mouse brain, as derived from radioautography after injection of thymidine-H^3, J. Comp. Neurol., 116 (1961) 349-367.

SMART J.L., Activity and exploratory behavior of adult offspring of undernourished mother rats, Dev. Psychobiol., 7/4 (1974) 315-321.

SMART J.L. and DOBBING J., Vulnerability of developing brain. VI. Relative effects of fetal and early postnatal undernutrition on reflex ontogeny and development of behavior in the rat, Brain Res., 33 (1971) 303-314.

SMART J.L., DOBBING J., ADLARD B.P.F., LYNCH A. and SANDS J., Vulnerability of developing brain : relative effects of growth restriction during the fetal and suckling periods on behavior and brain composition of adult rats, J. Nutr., 103 (1973) 1327-1337.

SMART J.L., WHATSON T.S., and DOBBING J., Thresholds of response to electric shock in previously undernourished rats, Br. J. Nutr., 34 (1975) 511-516.

SMART J.L., TRICKLEBANK M.D., ADLARD B.P.F. and DOBBING J., Nutritionally small-for-date rats : their subsequent growth, regional brain 5-hydroxytryptamine turnover, and behavior, Pediatr. Res., 10/9 (1976) 807-811.

SMIT G.J. and COLON E.J., Quantitative analysis of the cerebral cortex. I. Aselectivity of the Golgi-Cox staining, Brain Res., 13 (1969) 485-510.

SOBOTKA T.J., COOK M.P. and BRODIE R.E., Neonatal malnutrition: neurochemical, hormonal and behavioral manifestations, Brain Res., 65 (1974) 443-457.

SQUIRE L.R. and BARONDES S.H., Memory impairment during prolonged training in mice given inhibitors of cerebral protein synthesis, Brain Res., 56 (1973) 215-225.

STEIN Z., SUSSER M., SAENGER G. and MAROLLA F., Nutrition and mental performance, Science, 178 (1972) 708-713.

STENSAAS L. J., The development of hippocampal and dorsolateral pallial regions of the cerebral hemisphere in fetal rabbits. VI. Ninety millimeter stage, cortical differentiation, J. Comp. Neurol., 132 (1968) 93-108.

STEWART R.J., MERAT A. and DICKERSON J.W.T., Effect of low protein diet in mother rats on the structure of the brains of the offspring, Biol. Neonate, 25 (1974) 125-134.

STOCH M.B. and SMYTHE P.M., 15-year developmental study on effects of severe undernutrition during infancy on subsequent physical, growth and intellectual functioning, Arch. Dis. Child., 51/5 (1976) 327-336.

STURROCK R.R., Histogenesis of the anterior limb of the anterior commissure of the mouse brain. I. A quantitative study of changes in the glial population with age, J. Anat. (Lond.), 117 (1974) 17-25.

STURROCK R.R., SMART J.L. and DOBBING J., Effects of undernutrition during the suckling period on growth of the anterior and posterior limbs of the mouse anterior commissure, Neuropathology and Applied Neurobiology, 2 (1976) 411-419.

SUGITA N., Comparative studies on the growth of the cerebral cortex, J. Comp. Neurol., 29 /1-2 (1918 a).

SUGITA N., Comparative studies on the growth of the cerebral cortex. VII. On the influence of starvation at an early age upon the development of the cerebral cortex of the albino rat, J. Comp. Neurol., 29/3 (1918 b).

SWAIMAN K.F., The effect of food deprivation and refeeding on brain enzyme activity in immature rat brain, Brain Res., 43 (1972) 296-298.

SWAIMAN K.F., DALEIDEN J.M., WOLFE R.N., The effect of food deprivation on enzyme activity in developing brain, J. Neurochem., 17 (1970) 1387-1391.

SYKES S.E. and CHEYNE J.A., The effects of prenatal and postnatal protein malnutrition on physical and motor development of the rat, Dev. Psychobiol., 9/3 (1976) 285-295.

TIKAL K., BENESOVA O. and FRANKOVA S., The effect of pyridoxine on individual behavior, social interactions, and learning in rats malnourished in early postnatal life, Psychopharmacologia (Berl.), 46/3 (1976) 325-332.

TIZARD J., Early malnutrition, growth and mental development in man, Br. Med. Bull., 30 (1974) 169-174.

TUCHMANN-DUPLESSIS H., Influence of environmental agents on mammalian foetal development, Proc. R. Soc. Med., 61 (1968) 1289-1290.

VALVERDE F., Apical dendritic spines of the visual cortex and light deprivation in the mouse, Exp. Brain Res., 3 (1967) 337-352.

VALVERDE F., Structural changes in the area striata of the mouse after enucleation, Exp. Brain Res., 5 (1968) 274-292.

VALVERDE F., The Golgi method. A tool for comparative structural analysis, In : Contemporary Research Methods in Neuroanatomy, Nanta and Ebesson (eds.), Springer-Verlag, (1970) 12-31.

VAN DER LOOS H., Une combinaison de 2 vieilles méthodes histologiques pour le système nerveux central, Mschr. Psychiat. Neurol., 132 (1956) 330-334.

VAN DER LOOS H., In : Dendro-dendritsche Verbindingen in de schors der grote hersenen, H. Stam (ed.), Haarlem, chap. II B (1959).

VAN DER LOOS H. and WOOLSEY T.A., Somatosensory cortex structural alterations following early injury to sense organs, Science, 179 (1973) 395-398.

VAUGHN J.E., An electron microscopic analysis of gliogenesis in rat optic nerves, Z. Zellforsch., 94 (1969) 293-324.

VAVROUSEK-JAKUBA E.M. and MILLER S.A., Effect of starvation on protein synthesis in neonatal rat liver, J. Nutr., 105 (1975) 1326-1333.

VENDRELY R. et VENDRELY C., La teneur du noyau cellulaire en acide désoxyribonucléique à travers les organes, les individus et les espèces animales. Etude particulière des mammifères, Experientia (Basel), 5 (1949) 327.

VERLEY R. and AXELRAD H., Postnatal ontogenesis of potentials elicited in the cerebral cortex by afferent stimulation, Neuroscience letters, 1 (1975) 99-104.

WEBSTER W., SHIMADA M. and LANGMAN J., Effect of fluorodeoxyuridine, colcemide and bromodeoxyuridine on developing neocortex of the mouse, Am. J. Anat., 137 (1973) 67-86.

WELLER W.L. and JOHNSON J.I., Barrels in cerebral cortex altered by receptor disruption in newborn, but not in five-days old mice (Critecidae and Muridae), Brain Res., 83 (1975) 504-508.

WEST C.D. and KEMPER T.L., The effects of a low protein diet on the anatomical development of the rat brain, Brain Res., 107 (1976) 221-237.

WHITTAKER V.P. and GRAY E.G., The synapse : biology and morphology, Brit. Med. Bull., 18 (1962) 223-228.

WIGGINS R.C., BENJAMINS J.A., KRIGMAN M.R. and MORELL P., Synthesis of myelin proteins during starvation, Brain Res., 80 (1974) 345-349.

WIGGINS R.C., MILLER S.L., BENJAMINS J.A., KRIGMANN M.R. and MORELL P., Myelin synthesis during postnatal nutritional deprivation and subsequent rehabilitation, Brain Res., 107 (1976) 257-273.

WINICK M., Malnutrition and brain development, J. Pediatr., 74/5 (1969) 667-679.

WINICK M. and NOBLE A., Cellular response in rats during malnutrition at various ages, J. Nutr., 89 (1966) 300-306.

WINICK M. and NOBLE A., Cellular response with increased feeding in neonatal rats, J. Nutr., 91 (1967) 179-182.

WINICK M. and ROSSO P., The effect of severe early malnutrition in cellular growth of the human brain, Pediatr. Res., 3 (1969) 181-184.

WONG P.T., Residual effects of food deprivation on food consumption and runway performance in the satiated rat, J. Comp. Physiol. Psychol., 84/2 (1973) 345-352.

WOOLSEY T.A. and VAN DER LOOS H., The structural organization of layer IV in the somatosensory region (S1) of mouse cerebral cortex, Brain Res., 17 (1970) 205-242.

ZAMENHOF S., MOSLEY J. and SCHULLER E., Stimulation of the proliferation of cortical neurons by prenatal treatment with growth hormone, Science, 152 (1966) 1396-1397.

ZAMENHOF S., VAN MARTHENS E. and MARGOLIS F.L., DNA (cell number) and protein in neonatal brain : alteration by maternal dietary protein restriction, Science, 160 (1968) 322-323.

ZAMENHOF S., VAN MARTHENS E. and GRAVEL L., Prenatal nutritional factors affecting brain development, Nutrition Reports International, 7/5 (1973) 371-382.

ZEMAN F.J. and STANBROUGH E.C., Effect of maternal protein deficiency on cellular development in the fetal rat, J. Nutr., 99 (1969) 274-282.

ZILLES K. and WINGERT F., Quantitative studies of the development of the fresh volumes and the number of neurons of the nuclei N. oculomotorii of white mice during ontogenesis, Brain Res., 56 (1973) 63-75.

TABLE DES MATIERES

Page

INTRODUCTION GENERALE..... 1

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES.

A. Introduction..... 4

B. Animaux d'experience..... 5
B.1. Provenance et conditions standard..... 5
B.2. Alimentation..... 5
B.3. Estimation de la croissance..... 5
B.4. Sacrifice des animaux et prélèvement des cerveaux..... 7

C. Methodes de deprivation nutritionnelle..... 7
C.1. Introduction..... 7
C.2. Sous-nutrition postnatale..... 9
C.3. Critique de la methode de sous-nutrition..... 10
C.4. Malnutrition protéique maternelle..... 11
C.5. Critique de la methode de malnutrition..... 12
C.6. Comparaison des deux méthodes et rapport protéines-calories..... 13
C.7. Valeur des modèles pour l'humain..... 15
C.7.1. Type de déprivation..... 15
C.7.2. Critique critique..... 15

D. Technique histologique de Crésyl violet..... 17
D.1. Generalités..... 17
D.2. Fixation..... 17
D.3. Remarques sur la fixation..... 18
D.4. Imprégnation - coupe - montage..... 18
D.5. Coloration au Crésyl violet..... 19

E. Technique histologique de Golgi..... 20
E.1. Generalités..... 20
E.2. Imprégnation..... 21
E.3. [illegible]..... 22
E.4. [illegible]..... 23
E.5. [illegible] et montage..... 23

Page

6. Méthode de cytoarchitectonie quantitative..... 23
6.1. Généralités..... 23
6.2. Description de la méthode..... 24
6.3. Critique de la méthode..... 24
6.3.1. Validité de l'échantillonnage..... 27
6.3.2. Erreur de comptage..... 27
6.3.3. Erreur due à des cellules coupées..... 28
6.3.4. Epaisseur de la coupe..... 29
6.3.5. Identification des aires..... 29
6.3.6. Identification cellulaire..... 29

7. Mesure de l'épaisseur corticale..... 30

8. Estimation du volume cortical et du nombre total de cellules.... 33
8.1. Généralités..... 33
8.2. Estimation du volume cortical..... 35
8.3. Estimation du nombre de cellules dans un échantillonnage cortical..... 37
8.4. Estimation du nombre de cellules dans le volume cortical.. 38

9. Analyse quantitative du neuropile..... 39
9.1. Généralités..... 39
9.2. Estimation du nombre d'épines dendritiques sur un segment de dendrite apical..... 40
9.2.1. Description de la méthode..... 40
9.2.2. Sources d'erreurs et correction..... 42
9.3. Estimation du degré de branchement dendritique..... 43
9.3.1. Description de la méthode..... 43
9.3.2. Critique de la méthode..... 44

10. Analyse statistique des résultats..... 45

CHAPITRE II : MATURATION CORTICALE NORMALE. Page

1. Introduction..... 46
1.1. Historique..... 46
1.1.1. Migration neuronale et mise en place des couches. 47
1.1.2. Maturation postnatale..... 48
1.2. Situation du problème..... 49

2. Croissance des animaux..... 51
2.1. Croissance corporelle..... 51
2.2. Croissance cérébrale..... 51

3. Description des aires..... 53
3.1. Nomenclature..... 53
3.2. Description à l'état adulte..... 53
3.2.1. Aire 4..... 53
3.2.2. Aire 10..... 56
3.2.3. Aire 3..... 58
3.2.4. Aire 17..... 58
3.3. Description au cours du développement..... 61

4. Cytoarchitectonie quantitative..... 66
4.1. Diametre nucléaire..... 66
4.2. Densité cellulaire..... 68
4.2.1. Variation de la densité neuronale au cours du développement..... 68
4.2.2. Variation de la densité gliale au cours du développement..... 70
4.2.3. Variation de la densité cellulaire dans la substance blanche..... 71

5. Mesure de l'épaisseur des couches..... 75
5.1. Variation à l'état adulte..... 75
5.2. Variation au cours du développement..... 75
5.3. Pourcentage de l'épaisseur totale..... 76

6. Estimation du volume cortical..... 8

Page

7. Estimation du nombre total de cellules dans le volume cortical. 80
7.1. Echantillonnage cortical..... 81
7.2. Nombre total de neurones..... 82
7.3. Nombre total de cellules gliales..... 82

8. Analyse quantitative du neuropile..... 84
8.1. Généralités..... 84
8.2. Nombre d'épines sur un segment de dendrite apical..... 85
8.2.1. Couche V..... 87
8.2.2. Couche III..... 89
8.3. Nombre d'intersections dendritiques..... 89
8.3.1. Couche V..... 90
8.3.2. Couche III..... 90
8.4. Distribution dendritique..... 91
8.5. Comparaison des couches V et III..... 94

9. Importance relative des différents paramètres de la maturation corticale..... 95
9.1. Maturation rapide..... 95
9.2. Plasticité corticale..... 97

10. Discussion..... 100
10.1. Maturation différentielle des couches..... 100
10.1.1. Densité neuronale et épaisseur corticale..... 101
10.1.2. Neuropile..... 104
10.2. Mort neuronale..... 106
10.3. Prolifération gliale..... 109
10.4. Dynamique corticale..... 111
10.5. Périodes critiques du développement et corrélations fonctionnelles..... 113

CHAPITRE III : SOUS-NUTRITION POSTNATALE. page

1. Introduction..... 116
1.1. Historique..... 116
1.2. Situation du problème..... 117

2. Croissance des animaux..... 120
2.1. Croissance corporelle..... 120
2.2. Comportement..... 122
2.3. Croissance cerebrale..... 122

3. Description des aires..... 125

4. Cytoarchitectonie quantitative..... 127
4.1. Diamètre nucléaire..... 127
4.2. Densite cellulaire..... 127
4.2.1. Densité neuronale..... 129
4.2.2. Densité gliale..... 133
4.2.3. Densité cellulaire dans la substance blanche..... 134

5. Mesure de l'épaisseur des couches..... 136

6. Estimation du volume cortical..... 138

7. Estimation du nombre total de cellules dans le volume cortical. 140
7.1. Echantillonnage cortical..... 140
7.2. Nombre total de neurones..... 140
7.3. Nombre total de cellules gliales..... 141

8. Analyse quantitative du neuropile..... 143
8.1. Generalités..... 143
8.2. Nombre d'épines sur un segment de dendrite apical..... 143
8.2.1. Couche V..... 144
8.2.2. Couche III..... 146
8.3. Nombre d'intersections dendritiques..... 149
8.3.1. Couche V..... 149
8.3.2. Couche III..... 150

page

8.4. Distribution dendritique..... 150
8.5. Comparaison des couches V et III..... 153

. Importance relative des différents paramètres..... 154

0. Discussion..... 157
10.1. Considérations générales..... 157
10.2. Retard général de croissance..... 159
10.3. Retard de maturation dans le cortex cérébral..... 160
10.3.1. Densités neuronales et gliales..... 160
10.3.2. Volume cortical et nombres totaux de cellules.... 165
10.3.3. Neuropile..... 170
10.4. Irréversibilité des phénomènes..... 173
10.5. Corrélations fonctionnelles..... 175
10.5.1. Corrélations biochimiques..... 176
10.5.2. Activité électrique..... 177
10.5.3. Comportement..... 179

CHAPITRE IV : MALNUTRITION PROTEIQUE MATERNELLE. page

1. Introduction..... 182
1.1. Historique..... 182
1.2. Situation du problème..... 183

2. Croissance des animaux..... 185
2.1. Croissance corporelle..... 185
2.2. Comportement..... 187
2.3. Croissance cérébrale..... 187

3. Description des aires..... 187

4. Cytoarchitectonie quantitative..... 189
4.1. Diamètre nucléaire..... 189
4.2. Densité cellulaire..... 189
4.2.1. Densité neuronale..... 189
4.2.2. Densité gliale..... 194
4.2.3. Densité cellulaire dans la substance blanche..... 194

5. Mesure de l'épaisseur des couches..... 194

6. Estimation du volume cortical..... 197

7. Estimation du nombre total de cellules dans le volume cortical. 197
7.1. Echantillonnage cortical..... 197
7.2. Nombre total de neurones..... 197
7.3. Nombre total de cellules gliales..... 199

8. Analyse quantitative du neuropile..... 201
8.1. Généralités..... 201
8.2. Nombre d'épines sur un segment de dendrite apical..... 201
8.2.1. Couche V..... 201
8.2.2. Couche III..... 202
8.3. Nombre d'intersections dendritiques..... 206
8.3.1. Couche V..... 206
8.3.2. Couche III..... 207

page

8.4. Distribution dendritique..... 207
8.5. Comparaison des couches V et III..... 207

9. Importance relative des différents paramètres..... 210

10. Discussion..... 212
10.1. Considérations générales..... 212
10.2. Retard général de croissance..... 213
10.3. Retard de maturation dans le cortex cérébral..... 214
10.3.1. Densités neuronales et gliales..... 215
10.3.2. Volume cortical et nombres totaux de cellules.... 218
10.3.3. Neuropile..... 221
10.4. Irréversibilité des phénomènes..... 224
10.5. Corrélations fonctionnelles..... 226
10.5.1. Corrélations biochimiques..... 226
10.5.2. Activité électrique..... 228
10.5.3. Comportement..... 229

CHAPITRE V : CONSIDERATIONS GENERALES. page

1. Introduction..... 231

2. Comparaison des effets de la sous-nutrition postnatale et de la malnutrition maternelle..... 231
2.1. Rappel méthodologique..... 231
2.2. Croissance des animaux..... 232
2.3. Développement cortical..... 233
2.3.1. Densité neuronale..... 234
2.3.2. Neuropile..... 237

3. Nutrition et vulnérabilité corticale..... 242

4. Tentative d'extrapolation à l'enfant humain..... 245

5. Conclusion..... 249

BIBLIOGRAPHIE..... 250

TABLE DES MATIERES..... 282

Clausthal-Zellerfeld
Bönecke-Druck
1977